

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

UNIDAD DE POSGRADO

**“Efecto del extracto acuoso de *lepidium meyenii* sobre el
perfil lipídico y daño oxidativo en ratas ovariectomizadas”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de
Magister en Bioquímica

AUTOR

Miguel Angel Zelada Chavez

Lima – Perú

2013

EFFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Lepidium meyenii*
SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO Y DAÑO OXIDATIVO EN RATAS
OVARIECTOMIZADAS.

Mi corazón sangra cuando te recuerdo,
que difícil es no verte más,
tu siempre seras la luz de mi vida,
cuando miro al cielo, se que estás ahí,
madre querida,
donde más pueden estar los ángeles como tú.

A la memoria de la Dra. Raquel Ore Sifuentes,
con quien comencé un sueño y
a mi asesora la Dra. Sivia Suarez Cunza
quien lo hizo realidad.

ÍNDICE GENERAL

	pag
INDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	12
1.1. SITUACIÓN PROBLEMÁTICA.....	12
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	12
1.3 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
1.4. OBJETIVOS.....	13
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	14
2.1 MENOPAUSIA.....	14
2.2 MENOPAUSIA Y METABOLISMO DE LÍPIDOS.....	16
2.3 MENOPAUSIA Y ESTRÉS OXIDATIVO.....	19
2.4 TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL (TRH).....	20
2.5 MACA COMO ALTERNATIVA A LA TRH.....	22

2.6 TRABAJOS CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN ..	24
CAPÍTULO III: MATERIALES Y METODOS.....	25
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO.....	25
3.2 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO Y ADMINISTRACIÓN ORAL.....	26
3.3 OVARIECTOMÍA.....	27
3.4 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS.....	27
3.4.1 Determinación del estradiol (Estradiol – E2).....	27
3.4.2 Determinación de la hormona folículo estimulante (FSH)	28
3.4.3 Determinación de la hormona luteinizante (LH).....	29
3.4.4 Lipoperoxidación en suero.....	29
3.4.5 Determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD) en Eritrocitos.....	30
3.4.6 Determinación de vitamina C en Suero.....	32
3.4.7 Determinación de Colesterol Total, HDL colesterol y LDL colesterol.....	32
3.4.8 Determinación de Triglicéridos.....	33
3.4.9 Análisis Estadístico.....	34
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	35
4.1 PESO DEL ANIMAL RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS CON MACA	35
4.2 NIVELES HORMONALES (FSH, LH, ESTRADIOL) Y TRATAMIENTOS CON MACA.....	36

4.3 EVALUACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO Y TRATAMIENTOS CON MACA.....	38
4.3.1 Lipoperoxidación.....	40
4.3.2 Superóxido Dismutasa.....	40
4.3.3 Vitamina C.....	42
4.4 PERFIL LIPÍDICO Y TRATAMIENTOS CON MACA	43
4.4.1 Niveles de Triglicéridos	43
4.4.2 Niveles de Colesterol Total y Tratamientos Con Maca..	47
4.4.3 Niveles de HDL, LDL y tratamientos con maca.....	48
4.4.4 Índices lipídicos y Tratamientos con Maca.....	53
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	55
5.2 NIVELES HORMONALES (FSH, LH, ESTRADIOL) Y TRATAMIENTOS CON MACA	57
5.3 EVALUACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO Y TRATAMIENTOS CON MACA	58
5.3.1 Lipoperoxidación.....	58
5.3.2 Actividad Superóxido Dismutasa (SOD).....	59
5.3.3 Niveles de vitamina C	61
5.4 Perfil Lipídico y Tratamientos con Maca.....	64
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES.....	70
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		pag
1	Edad y concentración de lípidos y lipoproteínas	17
2	Comparación del Peso (g) corporal de las ratas ovariectomizadas antes y después del tratamiento administrado	35
3	Niveles hormonales en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.....	37
4	Comparaciones múltiples de los niveles hormonales según tratamiento administrado en ratas ovariectomizadas.....	38
5	Niveles de lipoperoxidación ($\mu\text{mol/L}$) en ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado	39
6	Comparaciones múltiples de los niveles de lipoperoxidación según tratamiento administrado en ratas ovariectomizadas	40
7	Niveles de superóxidodismutasa (U/mL) en ratas ovariectomizadas según tratamiento	41
8	Concentración de vitamina C (mg%) en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado	42
9	Concentración de Triglicéridos (mg%) en sangre de ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado	43

10	Concentración de Colesterol total en sangre (mg%) de ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado	46
11	Concentración de Colesterol total en sangre (mg%) de ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado.....	47
12	Concentración de HDL colesterol en sangre (mg%) de ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado	49
13	Comparaciones múltiples de la concentración de HDL según tratamiento administrado en ratas ovariectomizadas	50
14	Concentración de LDL colesterol en sangre (mg%) de ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado	51
15	Comparaciones múltiples de la concentración de LDL, según tratamiento administrado en ratas ovariectomizadas	52
16	Índices lipídicos en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado	53
17	Comparaciones múltiples de los índices lipídicos por tratamiento administrado según la prueba de Scheffé	54

ÍNDICE DE FIGURAS

		pag
1	Niveles de lipoperoxidación en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado	39
2	Niveles de superóxidodismutasa en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.	41
3	Concentración de vitamina C en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.	43
4	Concentración de triglicéridos en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado	45
5	Concentración de colesterol total en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado	48
6	Concentración de HDL en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado	49
7	Concentración de LDL en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.	52

RESUMEN

El extracto acuoso de “Maca” *Lepidium meyenii* (Walp) en diferentes concentraciones (6,66mg/día, 66,66mg/día y 666,66mg/día) fue administrado a ratas hembras Holtzman ovariectomizadas, evaluando su acción sobre el perfil lipídico, niveles de lipoperoxidación y niveles hormonales (FSH, LH y estradiol).

Después de 21 días de tratamiento los animales fueron anestesiados y sacrificados. Se obtuvieron muestras de sangre y plasma para determinar concentraciones de FSH, LH y Estradiol, así como de triglicéridos, vitamina C, lipoperoxidación y actividad de superóxidodismutasa.

Los resultados mostraron una disminución del peso corporal y los niveles de triglicéridos en los grupos de animales que recibieron tratamiento con maca. Los niveles de HDL- y LDL-colesterol sufrieron una reducción significativa, mientras que se pudo apreciar un incremento de los niveles de lipoperoxidación y estradiol en sangre a la máxima dosis de maca, así como una disminución de la actividad de la superóxidodismutasa y de los niveles de vitamina C asociados a la presencia de maca en la dieta.

Palabras clave: *Lepidium meyenii*, maca, colesterol, LDL-colesterol, HDL-colesterol, LH, FH, LH, Triglicéridos.

ABSTRACT

The aqueous extract of "Maca" *Lepidium meyenii* (Walp) in different concentrations (6,66mg / day, 66,66mg / day and 666,66mg / day) was administered to female rats ovariectomized Holtzman, evaluating its effect on the lipid profile, lipid peroxidation levels and hormone levels (FSH, LH and estradiol).

After 21 days of treatment, the animals were anesthetized and sacrificed. Blood samples were taken to determine plasma concentrations of FSH, LH and estradiol and triglycerides, vitamin C, lipid peroxidation and superoxide dismutase.

The results showed a decrease in body weight and triglyceride levels in the groups of animals treated with maca. Levels of HDL-and LDL-cholesterol experienced a significant reduction, whereas it was observed an increase in lipid peroxidation and estradiol levels in blood at the highest dose of maca as well as a decrease in the activity of superoxide dismutase and vitamin C levels associated with the presence of maca in the diet.

Keywords: *Lepidium meyenii*, maca, cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, LH, FH, LH, Triglycerides.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	: Adenosín Di Fosfato
FSH	: Hormona Folículo Estimulante
GPx	: Glutación Peroxidasa
HDL	: Lipoproteína de Alta Densidad
IFN- γ	: Interferón gamma
LDL	: Lipoproteína Baja Densidad
LH	: Hormona luteinizante
MDA	: Complejo Tiobarbitúrico-Malondialdehído
RPM	: Revoluciones Por Minuto
SOD	: Superóxido Dismutasa
TCA	: Ácido Tricloro Acético
TGO	: Transaminasa Glutámico Oxalacética
TGP	: Transaminasa Glutámico Pirúvica
TRH	: Terapia de Reemplazo Hormonal
TRIS	: Hidroximetil Amino Metano
VBC	: Verde de Bromocreso

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1. Situación Problemática

La menopausia es el cese permanente de la menstruación, determinado de manera retrospectiva, después de 12 meses consecutivos de amenorrea, sin causas patológicas. Durante la menopausia se observa generalmente una reducción en la producción de estrógenos y un incremento en la secreción de hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH). Estos cambios hormonales serían responsables de la aparición de los síntomas como bochornos, sudoración (picos elevados de LH), cambios del carácter y humor; así como de síntomas tardíos, entre los que podemos citar las alteraciones del revestimiento de la vagina (que causan sequedad del epitelio, ardor, prurito y dolor durante el coito), osteoporosis, insomnio, depresión, y otros relacionados con la audición, voz y visión. También se modifica el patrón lipídico con incremento del colesterol en sangre y de ahí una mayor tendencia al aumento de la presión sanguínea y un mayor riesgo a accidentes cardiovasculares.

1.2. Formulación del Problema

¿Cuál es el efecto del extracto acuoso de *Lepidium meyenii* Walp sobre el perfil lipídico y daño oxidativo en ratas ovariectomizadas?

1.3 Justificación de la Investigación

Estas alteraciones pueden ser atenuadas con la llamada Terapia de Reemplazo Hormonal (TRH), compuesta básicamente por administración de estrógenos, pero hace varios años se han publicado numerosos trabajos que relacionan este tipo de tratamiento con diversas anomalías, incluso el cáncer. Por esta razón, se ha dirigido la atención al uso de extractos de diversas plantas que contienen fitoestrógenos, los cuales han sido considerados como una buena alternativa al uso de estrógenos como tratamiento de la menopausia.

1.4. Objetivos

1.4.1. *Objetivo general*

El objetivo de la presente tesis fue determinar los efectos de la administración de extractos de maca en ratas ovariectomizadas sobre el daño oxidativo y el perfil lipídico, comparándolos con los efectos obtenidos mediante un tratamiento de reemplazo hormonal.

1.4.2. *Objetivo específico*

- Determinar el efecto del extracto acuoso de *Lepidium meyenii* Walp sobre el perfil lipídico en ratas ovariectomizadas.
- Determinar el efecto del extracto acuoso de *Lepidium meyenii* Walp sobre el daño oxidativo en ratas ovariectomizadas.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Menopausia

El climaterio es un término genérico utilizado para describir menopausia y andropausia. Es el periodo durante el cual la mujer pasa de la fertilidad a la infertilidad, comienza de 3 a 5 años antes de la menopausia y puede prolongarse hasta 10 años después (Montaño y col., 2001). Consta de tres etapas: la premenopausia, la menopausia propiamente dicha y la posmenopausia. La premenopausia comprende desde el inicio de la sintomatología hasta la menopausia (aproximadamente 5 años). La menopausia comprende un lapso de 12 meses de amenorrea continua. La posmenopausia es el periodo que comprende los 5 a 10 años subsiguientes a la menopausia (Chang y col., 2013).

La transición menopáusica se evidencia con diversos síntomas vasomotores (rubores o también llamadas “noches calientes”, sensaciones repentinas de calor con mayor intensidad sobre la cara, cuello y pecho, asociados a una intensa sudoración generalmente seguido de una sensación de frío), síntomas vaginales, incontinencia urinaria, disfunción sexual, depresión, ansiedad, humor inestable, pérdida de la memoria, fatiga, dolor de cabeza, dolores comunes, aumento de peso. Estos síntomas se encuentran afectados entre otras causas por la forma de vida, raza, estado socio económico, y la ubicación geográfica (Melby, 2011).

Durante el periodo posmenopáusico se manifiestan a nivel vaginal sequedad, malestar, picazón y dolor durante el coito, los que persisten y/o empeoran durante el envejecimiento. Estos síntomas pueden ser tratados con cremas de estrógeno de aplicación local (Kokot, 2012). Los síntomas de envejecimiento urogenital aparecen como consecuencia de la disminución de estrógeno durante la postmenopausia y se prolongan por el resto de la vida (Ferris y col., 2010), y se originan debido a que la disminución de estrógenos disminuye el flujo sanguíneo en el tracto urogenital bajo, condicionando la aparición de esta sintomatología. En mujeres de 61 años el 48,8 % presentan problemas vulvo-vaginales, 29,2% incontinencia urinaria y 13% infección urinaria recurrente (Ballagh, 2005). El bajo nivel de estrógeno también ocasiona disminución de la producción de colágeno y grasa de la vulva así como del espesor del epitelio vaginal y de sus trasudados, aumentando el pH uretral y lesionando la función del esfínter uretral intrínseco (Ballagh, 2005).

El cambio hormonal induce en muchos casos un cambio psicológico considerado por muchos investigadores como “depresión”. Existen también reportes que señalan algunas dificultades en la memoria de mujeres menopáusicas, pero este cambio no es significativo al compararlas con mujeres en edad no menopáusica, lo que sugiere que las dificultades de la memoria no son específicas, sino al parecer se incrementan durante esta etapa (Matz-costa, 2012). Asimismo, hay otros síntomas relacionados a la voz, a la visión y audición, a los que no necesariamente se les presta atención por parte de los médicos (Capote, 2011).

La menopausia trae consigo una serie de reacciones fisiológicas y psicológicas que alteran el ritmo de vida de una mujer. Un estudio realizado por Pacheco y Salvador (1997) en mujeres mayores de 39 años sobre el conocimiento del climaterio y la menopausia, encontró que el 54% de encuestadas la asociaban con la desaparición de la

menstruación, un 52% con sus síntomas asociados y un 47% no identificaba su causa. El 86% presentaba los síntomas, entre los cuales destacan los bochornos y los trastornos neuropsiquiátricos. El 90% de las encuestadas manifestó disposición a recibir un tratamiento para la menopausia. Al igual que otros trabajos, estos autores reportaron que la actividad y el deseo sexual disminuyen después de la menopausia, aun cuando las mujeres entrevistadas no conocen la causa de esta disminución. Dulanto (2002) realizó un estudio del estereotipo psico-socio-cultural de la menopausia en San Juan de Lurigancho en mujeres cuyas edades fluctuaban entre los 40 y 55 años, encontrando que el entorno socio-cultural no solo puede alterar la fisiología femenina, sino su percepción y respuesta a la sintomatología. Algunas mujeres indicaron que la menstruación era un desfogue sexual o una eliminación de lo malo, mientras que la menopausia era un cambio biológico o psicológico que señalaba la tercera edad. La aceptación de la terapia de reemplazo hormonal resultó variable con una aptitud predominantemente negativa.

2.2 Menopausia Metabolismo de Lípidos y Perfil Lipídico

En la posmenopausia se presentan también cambios metabólicos, dentro de los cuales se puede mencionar un aumento del perfil de lípidos caracterizado por aumento del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL), de los triglicéridos (TG) y de las partículas pequeñas densas de LDL, con reducción del colesterol perteneciente a la fracción HDL y aumento de las concentraciones séricas de glucosa e insulina, tal vez como resultado directo de la falla ovárica o de manera indirecta a consecuencia de la redistribución central de la grasa corporal (Zavalza, 2007). Reyna (2007) comparó la composición lipídica entre 50 mujeres premenopáusicas y 50 postmenopáusicas y encontraron diferencias significativas en cuanto a la concentración de colesterol total y a las

fracciones de HDL- y LDL-colesterol, al igual que en los niveles de triglicéridos, aunque ninguno de los dos grupos alcanzó una hipertrigliceridemia definida. Estos autores explican sus resultados como el producto de la conjunción del proceso de envejecimiento y el hipoestrogenismo. Los resultados del trabajo citado se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Edad y concentración de lípidos y lipoproteínas

	Premenopáusicas (N=50)	Posmenopáusicas (N=50)
Edad	46,3 ± 1,5	52,5 ± 3,0*
Colesterol total (mg/dL)	187,3 ± 25,4	243,3 ± 56,4*
LDL-colesterol (mg/dL)	113,1 ± 19,2	172,7 ± 49,2*
IDL-colesterol (mg/dL)	4,7 ± 3,7	11,0 ± 4,3*
Triglicéridos (mg/dL)	95,3 ± 20,3	165,2 ± 49,8*

*p<0,001.

Fuente: Reyna y col., 2007

El incremento de estas fracciones lipídicas es progresivo, como se muestra en el caso del colesterol asociado a LDL, el cual aumenta en los primeros 5 años de la postmenopausia (Luoto, 2000). Esta elevación de LDL-colesterol (LDL-c), relacionada con la disminución de los niveles de estrógeno, es considerada como un fuerte predictor de enfermedad cardiovascular en mujeres menores de 65 años de edad (Lewis, 2002)

La enfermedad cardiovascular es un proceso crónico de etiología multicausal, considerada como una de las causas de la mortalidad en mujeres. El contenido de estrógenos antes de la menopausia ejerce

un efecto protector, disminuyendo el riesgo hasta ese momento. En la postmenopausia, las tasas de mortalidad por enfermedad coronaria se incrementan en las mujeres de más de 55 años, siendo similares a la de los hombres 10 años más jóvenes. En general, la muerte por enfermedad cardiovascular es entre 4 y 8 veces más frecuente en las mujeres que en los hombres. Los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular identificados en la mujer son: edad mayor de 55 años, obesidad, hábito de fumar, diabetes mellitus, hipertensión, hipercolesterolemia y estrés, entre los más importantes. (Feliciano, 2011). Este riesgo está directamente relacionado con el metabolismo de las lipoproteínas, ya que cuando los niveles de HDL-c son menores de 50mg/dL, las mujeres en menopausia tienen tres veces mayor posibilidad de morir que las mujeres con concentraciones normales (Madrigal, 2008).

Se concluye pues que en la menopausia natural se produce un estado pro-aterogénico debido a la alteración del perfil lipídico: incremento de triglicéridos, alteraciones cualitativas y cuantitativas de la LDL, incremento de colesterol y triglicéridos en la LDL y modificaciones estructurales de la HDL que pueden alterar su función en el transporte reverso del colesterol (Villasmil, 2007), así como una disminución de la vasodilatación y un incremento en la agregación plaquetaria debido a la disminución de estrógenos (Francisco y col., 2013). El aumento del riesgo aterogénico también se relaciona al aumento de la oxidación del colesterol presente en las LDL (Torresani, 2009).

Se sabe que la estrógenoterapia revierte este efecto nocivo (Fernandes, 2008), ya que si esta hormona mantiene reducido el nivel de colesterol total y del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-c), se disminuirá la incidencia de enfermedad coronaria. La relación entre colesterol unido a proteínas de alta densidad (HDL-c) y la enfermedad coronaria es inversa en el mundo desarrollado. Una reducción del 11% en LDL-c y el incremento del

12% en HDL-c se ha relacionado con una disminución del 34% en enfermedad coronaria (Henderson, 2008).

2.3 Menopausia y Estrés Oxidativo

Considerando que los trastornos asociados al climaterio son producto de la conjunción de dos fenómenos naturales: el envejecimiento y la disminución en la producción de estrógeno, es importante relacionar la menopausia con el daño oxidativo. El envejecimiento, visto desde el punto de vista fisiológico, es un proceso en donde el equilibrio oxidativo cambia drásticamente según la etapa estudiada, y el climaterio no es la excepción (Escalante, 2009). La sintomatología aguda (síntomas neurovegetativos) y crónica (síndrome metabólico, enfermedad cardiovascular, hipertensión, osteoporosis, cáncer) que puede estar presente en la menopausia se vincula tanto a la disminución de estrógenos como al desbalance del estado redox normal (Pacheco, 2010a), puesto que se ha demostrado que la actividad antioxidante de los estrógenos (así como también algunos fitoestrógenos y la restricción calórica) podría ser atribuida a su capacidad de aumentar los niveles de estradiol, el cual es un antioxidante que actúa como “barrendero” de especies reactivas de oxígeno (Pacheco 2010b). Esta es la razón por la cual es importante de analizar el estrés oxidativo durante la menopausia, ya que si disminuyen los estrógenos, se esperaría un incremento de la presencia de especies reactivas de Oxígeno (EROs) y su consecuente generación de radicales libres, lo que explicaría también el incremento del riesgo aterogénico en la menopausia, además de la hipertrigliceridemia y la hipercolesterolemia.

Para contrarrestar los efectos oxidantes de los radicales libres, el organismo cuenta con un sistema de defensa antioxidante que interactúa con las especies reactivas de oxígeno para mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante y así proteger al organismo de los riesgos que

conlleva el estrés oxidativo. Este sistema está conformado por antioxidantes primarios o endógenos: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), ferritina, ceruloplasmina y antioxidantes secundarios o exógenos como las vitaminas A, E, C y beta-caroteno (Mukhopadhyay, 2005). Por esta razón es que, para medir el estrés oxidativo, se pueden determinar los niveles o actividades de estos agentes antioxidantes. Por ejemplo, Escalante (2009) cita dos trabajos, en uno de ellos se mostró una disminución de la superóxido dismutasa extracelular (ecSOD) y la superóxido dismutasa mitocondrial (MnSOD), así como un aumento de producción de radicales libres asociado a niveles decrecientes de estrógenos en ratas luego de ser ooforectomizadas; mientras que en el otro trabajo se describe un incremento en la actividad de NADPH oxidasa y un aumento en la liberación de superóxido vascular en ratones hembras, luego de ser ooforectomizadas (Escalante, 2009).

2.4 Terapia De Reemplazo Hormonal (TRH)

Danckers (2008) señala que Gonzales y Carrillo (1994) en un estudio realizado en poblaciones nativas y residentes de las grandes alturas, indicaron que la menopausia se inicia en poblaciones de las alturas antes que en aquellas poblaciones que se encuentran a nivel del mar, siendo sus síntomas los mismos. La aplicación de implantes dérmicos de 17- β -estradiol a mujeres menopáusicas tanto a nivel del mar como en las alturas, ocasiona un retardo en la elevación máxima del estradiol sérico en las mujeres de la altura antes que en las que viven a nivel del mar. Este es un ejemplo de lo que se denomina Terapia de Reemplazo Hormonal (TRH) y que es considerado como tratamiento para la menopausia.

Los trastornos de la menopausia, debidos a deficiencias y desequilibrios hormonales, se controlan o evitan con la prescripción de estrógenos en el marco de un tratamiento o terapia de sustitución hormonal. En 20 a 30% de las mujeres la menopausia transcurre con un mínimo de molestias imprecisas; en las restantes 70 a 80% la menopausia se presenta como un síndrome complejo, por lo que es necesaria la atención médica (D'haeseleer., 2009). No hay duda que la terapia de reemplazo de estrógeno atenúa con eficacia rubores calientes y otros síntomas vasomotores y es más eficaz que otras modalidades del tratamiento de la menopausia (Rozenbacem, 2010).

La TRH, únicamente a base de estrógenos o junto con progestágenos en un régimen cíclico o continuo, es recomendada a menudo para aligerar los síntomas de la menopausia (Borowiecka, 2010). Incluso la TRH ha sido asociada a efectos benéficos para el corazón. Un estudio realizado en el Boston Nurses' Health Study, indica una reducción del 35 a 50% de eventos cardiovasculares, en enfermeras que utilizaron estrógenos. Las mujeres que interrumpieron la TRH incrementaron el riesgo de accidentes cardiovasculares en un 20% (Windler, 2007). Los datos de frecuencias muestran que las mujeres que reciben terapia con estrógenos presentan un riesgo menor de muerte por estas causas, respecto a las que nunca habían seguido este tipo de terapia (Gordstein, 1996).

Sin embargo, la TRH ha sido relacionada a una serie de patologías, incluyendo el cáncer de mama, sobre todo si la administración de la hormona ha sido realizada por más de 10 años (Gordstein, 1996). Un estudio mostró que el riesgo de muerte en mujeres que recibieron TRH y las que recibieron un placebo era de 3 contra 2 (Heart, advis., 2011). De la misma forma, entre las usuarias de estrógeno existe un riesgo relativo que aumenta con el tiempo de desarrollar cáncer de endometrio (Crosbie, 2010), así como de cáncer ovárico (Lacey, 2006). La utilización frecuente de la TRH aumenta el sangrado posmenopáusico.

Si el endometrio presenta un grosor mayor de 5 mm deben hacerse pruebas de biopsia y raspado, dado que podría estar asociado a un carcinoma de endometrio (Sivritas, 2011). Las mujeres que utilizan la TRH pueden padecer una trombosis venosa profunda o embolia pulmonar al menos durante el primer año de tratamiento (Tagalak, 2012).

2.5 Maca Como Alternativa A La TRH

En vista que existen mujeres a las que no se les puede administrar estrógenos por contraindicación médica, y que por ejemplo en países como el nuestro existe un rechazo de la población femenina a recibir hormonoterapia principalmente por los temores al efecto oncológico (Pacheco y Salvador, 1997), surge la alternativa de la llamada medicina tradicional con base en el consumo de plantas medicinales, en muchas de las cuales ya se ha demostrado actividad estrogénica y efectos positivos sobre los órganos reproductores, tanto en animales de experimentación como en humanos. Por ejemplo, dentro de las plantas utilizadas en el tratamiento del síndrome perimenopáusico, se pueden mencionar a la soya, el lino y la salvia de Castilla, entre otras (Tempfer, 2009). Un estudio realizado en mujeres postmenopáusicas (de edad promedio de 55 años) a las que se les trató con extracto de soya (que contiene isoflavonas), dio como resultado la disminución en la incidencia y gravedad de los sofocos, no teniendo ninguna acción sobre el endometrio (Bolaños, 2010). En nuestro país, la maca ha sido indicada como una planta con un valor estrogénico agregado a sus propiedades nutricionales.

La maca es una crucífera que crece en los páramos altoandinos por encima de los 4000 m de altitud, sus hojas son pinnadas con 3 o 4 pares de foliolos opuestos; sus tejidos presentan características anómalas.

Los hipocótilos muestran una variedad de colores que pasan del morado al crema y amarillo. Se considera desde tiempos ancestrales que la maca incrementa la reproducción en el hombre y los animales (León, 1996). Los estudios fitoquímicos sobre la maca revelan que esta contiene esteroides, tales como campesteroides (27,3%), ergosterol (13,6%), brassicasterol (9,1%), 7,22-ergostadienol (45,5%), esta última con actividad fitoestrogénica. (Ruiz-Luna, 2005).

Gonzales (2012) realizó un estudio evaluando científicamente el potencial nutricional de la maca atribuido tradicionalmente. Trabajaron con ratones albinos suizos, observando que los valores de proteínas totales séricas y de la albúmina eran superiores para el grupo que ingirió maca cocida. Gonzales, (2009) refieren que la maca es muy nutritiva, con alrededor del 11% de proteínas, cuatro de las cuales están bajo la forma de polipéptidos, y también presenta niveles más altos de hierro y calcio que la papa blanca. Estos autores señalan que en los registros coloniales de hace 200 años se hacía un pago de 9 toneladas de maca, en una zona andina para la alimentación del ganado, buscando mejorar su reproducción. Valentova (2008) publica los resultados de estudios realizados en la República Checa sobre la botánica, composición y estructura de los componentes de la maca, así como su actividad biológica, mostrando un incremento de la citoquinina IFN- γ por el ecotipo morado, lo cual podría emplearse en el tratamiento del Alzheimer.

Por su actividad fitoestrogénica, la maca puede tener efectos positivos sobre los síntomas característicos de la menopausia y ser una alternativa a la TRH. Gonzales (2013) cita un trabajo de Chacón del 2001, en donde indica que la acción de la maca se basa en los esteroides de la planta, que actúan como disparadores químicos para ayudar al cuerpo por sí mismo a alcanzar un alto nivel de las hormonas apropiadas a la edad y al género de la persona que la toma. Valerio (2005) señala

que la respuesta a la maca por parte de mujeres menopáusicas es dependiente de la dosis.

2.6 Trabajos con Animales de Experimentación

Los roedores (ratas y ratones) han sido utilizados en diversos trabajos relacionados al uso de hormonas y su efecto sobre el sistema y comportamiento reproductivo. Zheng y col. (2000) determinaron que el efecto de la administración oral de *Lepidium meyenii* Walp en ratones con disfunción eréctil disminuían la disfunción, señalando que además había una actividad afrodisíaca. Cicero y col. (2001) realizaron un estudio con maca en polvo y concluyeron que la administración oral a corto y a mediano plazo, optimizaba el comportamiento sexual en ratas machos. Shin, B. y col. (2010) hallaron que los niveles de testosterona y progesterona aumentaron en ratones a los que se les administró vía oral extractos de *Lepidium meyenii* Walp., aunque no se encontró un incremento en los niveles de 17- β -estradiol en sangre. Oré (2008) encontró una reducción de los niveles de colesterol, LDL-colesterol y triglicéridos en ratas hipercolesterolémicas alimentadas con maca, con un menor daño tisular hepático que la atorvastatina, uno de los mejores agentes hipolipemiantes utilizados en clínica.

Las ratas ovariectomizadas representan un modelo bien reconocido para simular la falta de estrógenos en las mujeres con menopausia. Es decir, en estos animales se pueden ensayar los posibles efectos que pueden tener los principios activos, específicamente los fitoestrógenos, sobre los niveles hormonales y sobre las características fisiológicas, anatómicas y citológicas, y ser extrapolados a lo que se sucede en la menopausia humana. Por ejemplo, Ruiz-Luna y col. (2005) utilizaron extracto acuoso liofilizado de maca amarilla, observando que el proceso de implantación de embriones fue similar en ratones hembras tratadas con maca como en aquellas que no se les dio tratamiento con maca. Además, en ratones

hembras ovariectomizadas y tratadas con maca, el peso del útero aumentó, sugiriendo todo esto que la acción de la maca está asociada a una actividad tipo progesterona.

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo es de tipo cuantitativo de diseño experimental, fue desarrollado entre Abril y Noviembre del 2006, en el Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina-UNMSM en Lima-Perú.

3.1 Material Biológico

Se utilizó como material biológico *Lepidium meyenii* Walp, (maca amarilla) procedente de la localidad de carhuamayo, en la meseta de Junin cerca de Cerro de Pasco. Se colectaron entre Junio y Agosto del año 2000.

Se utilizó como material experimental ratas hembras Holtzman ovariectomizadas, del Instituto Nacional de Salud en Chorrillos en 05 grupos de 06 animales cada uno, con un peso corporal que variaba entre 250 - 300 gramos y con aproximadamente 3-4 meses de edad. Los animales fueron agrupados al azar y los grupos experimentales fueron definidos de la siguiente manera:

GRUPO I: Control Tratado con vehículo (agua).

GRUPO II: Se le administró 17- β -estradiol a una dosis diaria de 50 μ g/kg de peso.

GRUPO III: Tratado con extracto acuoso de maca a una dosis de 6,6 mg/día.

GRUPO IV: Tratado con extracto acuoso de maca a una dosis 66,6 mg/día.

GRUPO V: Tratado con extracto acuoso de maca a una dosis de 666,6 mg/día.

Las ratas fueron mantenidas a temperatura ambiente bajo un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, con alimento para roedores marca “Purina” y agua ad libitum. El tratamiento se realizó durante 21 días con un control interdiario del peso.

3.2 Preparación Del Extracto Acuoso Y Administración Oral

El extracto se preparó con 500 gramos de la raíz entera seca y pulverizada de *Lepidium meyenii* Walp (maca) en un recipiente con 1,5 litros de agua, dejando hervir por 30 minutos. Se dejó enfriar y luego se filtró. Este extracto fue considerado como una solución “stock” con una concentración de 333 mg/mL de raíz de maca.

Se preparó dos diluciones seriadas tomando 1 mL del “stock” y agregándole 9 mL de agua esterilizada (concentración 33,3 mg/mL) y luego a 1 mL de esta primera dilución se le agregó 9 mL de agua esterilizada (concentración 3,33 mg/mL).

Las diluciones fueron preparadas diariamente, y por 21 días se administró a cada rata vía oral con una sonda orogástrica 2 mL/kg peso de la solución según lo mostrado en el párrafo anterior.

El presente trabajo requirió la experimentación con animales vivos, por lo que se tuvo que considerar a los animales como seres sensibles, tratándolos con sumo cuidado y con el manejo apropiado, evitando cualquier tipo de sufrimiento de acuerdo a la declaración universal de los derechos de los animales proclamada por la UNESCO en 1978; el

instrumento de 2.8. 1989 del convenio europeo sobre la protección de los animales vertebrados, utilizados con fines científicos, así como también el de la National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington, DC: National Academy Press; 1996.

3.3 Ovariectomía

Se seleccionaron ratas hembras de un peso comprendido entre 250 – 300 g, las que se mantuvieron en ayunas por 10 horas antes de la intervención.

Los animales fueron anestesiados con éter etílico, inmovilizándolos sobre el dorso, para poder hacerles una incisión de 1 cm en cada uno de los cuadrantes inferiores del abdomen para alcanzar los ovarios, los cuales fueron separados con una ligadura. De esa manera se retiraron los ovarios de la cavidad peritoneal y se cerró quirúrgicamente la incisión. Entre los 10 y 15 días posteriores a la operación, a cada animal se le realizó un frotis vaginal, para comprobar que ninguno de ellos presentaba estro (máxima actividad estrogénica) en caso contrario se eliminan todos los animales que lo presenten, las ratas hembras deben estar inactivas (fase Diestro)

3.4 Determinaciones Bioquímicas

Después de 21 días de tratamiento, los animales fueron anestesiados con éter y sacrificados, obteniéndose muestras de suero y de plasma.

3.4.1 Determinación del estradiol (*Estradiol – E2*)

Se utilizó un test inmunológico in vitro según el principio de competición, con una duración total de 18 minutos. Se cogieron 35µL

del plasma y se incubaron con un anticuerpo biotinilado específico anti-estradiol, para formar un inmunocomplejo cuya cantidad dependía de la concentración de la hormona en la muestra. Luego se agregó un derivado de estradiol marcado con quelato de rutenio y micropartículas recubiertas de estreptavidina, para formar un complejo anticuerpo-hapteno que ocupó los puntos de fijación aún libres del anticuerpo biotinilado. El complejo total se fijó a la fase sólida por la interacción entre la biotina y la estreptavidina. La mezcla de reacción fue trasladada a la celda de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijaron temporalmente a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminaron posteriormente con el reactivo ProCell. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produjo una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se midió directamente con el fotomultiplicador. Los resultados se obtuvieron mediante una curva de calibración generada por el sistema.

3.4.2 Determinación de la hormona folículo estimulante (FSH)

Se utilizó un test inmunológico cuyo principio es la técnica sándwich con una duración total de 18 minutos. Se cogieron 40 μ L de plasma y se les agregó un anticuerpo monoclonal biotinilado específico anti-FSH y un anticuerpo específico monoclonal anti-FSH marcado con quelato de rutenio para formar un complejo tipo sándwich. Se incorporaron micropartículas recubiertas de estreptavidina, y el complejo formado fue fijado a la fase sólida por la interacción entre la biotina y la estreptavidina. La mezcla de reacción fue trasladada a la celda de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijaron temporalmente a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminaron posteriormente con el reactivo ProCell. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produjo una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz fue medida directamente con

el fotomultiplicador. Los resultados se obtuvieron mediante una curva de calibración generada por el sistema.

3.4.3 Determinación de la hormona luteinizante (LH)

Se utilizó un test inmunológico in vitro para la determinación cuantitativa de la hormona luteinizante en suero y plasma humano. El principio de la prueba fue el mismo que para la hormona folículo estimulante (técnica sándwich con una duración total de 18 minutos). Se tomaron 20 μ L de muestra, a los que se les agregó un anticuerpo monoclonal biotinilado específico anti-HL y un anticuerpo específico monoclonal anti-HL marcado con quelato de rutenio para formar un complejo sándwich. Después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fijó a la fase sólida por la interacción entre la biotina y la estreptavidina. La mezcla de reacción fue trasladada a la celda de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijaron temporalmente a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados fueron eliminados posteriormente con el reactivo ProCell. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produjo una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se midió directamente con el fotomultiplicador. Los resultados finales fueron obtenidos mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de una calibración a dos puntos y a una curva principal incluida en el código de barras del reactivo.

3.4.4 Lipoperoxidación en suero

Se realizó según Asakawa y Matsushita, basada en la medición del complejo Tiobarbitúrico - Malondialdehído (MDA). Se determinó usando como muestra 0,3 mL de suero que fue colocado en un

tubo con tapa rosca, luego se adicionó 0,6 mL de ácido tricloroacético al 20%, mezclando bien. Después, los tubos tapados fueron colocados en Baño María hirviente por 10 minutos. Luego que se dejaron enfriar, se añadió 0,9 mL del ácido tiobarbitúrico, se mezclaron bien y se les trasladó al Baño María hirviente por 30 minutos. Después que se enfriaron los tubos fueron centrifugados a 3000 RPM por 10 minutos, se separaron los sobrenadantes a otro tubo con ayuda de una pipeta Pasteur y se procedió a realizar la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a 535 nm. Los cálculos del Complejo Tiobarbitúrico - malondialdehído (MDA) se realizaron según la fórmula para muestras de suero:

$$\begin{aligned}(\text{MDA}) \mu\text{mol/L} &= 3,846 \times 10^{-5} \times \text{Ab}_{\text{MP}} = 38,46 \times 10^{-6} \times \text{Ab}_{\text{MP}} \mu\text{mol/L} \\ &= 38,46 \text{Ab}_{\text{MP}} \mu\text{mol/L}\end{aligned}$$

$$\text{Ab} = \varepsilon \cdot l \cdot C \Rightarrow C = \text{Ab} / \varepsilon \cdot l \quad \text{se sabe: } \varepsilon = 1,56 \times 10^5, b = 1$$

Pero la concentración está diluida 6 veces (suero 0,3 ml; 0,6 ATC; 0,9 TBA)

$$\text{Entonces: } C = 6 \text{ Ab} / \varepsilon \cdot l = 38,46 \times \text{Ab}_{\text{MP}} (\mu\text{mol/L})$$

3.4.5 Determinación de la actividad superóxido dismutasa (SOD) en Eritrocitos

Se realizó según Marklund y Marklund, técnica colorimétrica basada en la inhibición de la autooxidación del pirogalol en medio alcalino. Como muestra se utilizó sangre obtenida con anticoagulante, a partir de la cual en primer lugar se generó una hemólisis por choque osmótico y luego se prepararon diluciones seriadas con factores 1/5, 1/10 y 1/20. Se tomaron 920 μL de Buffer Tris HCl pH 8,2 50 mM, a los que se agregaron 30 μL de la muestra diluida. Se incubó a 37 °C

por 1 minuto y luego se le agregó 50 μL de pirogalol. Se leyeron las absorbancias a 420 nm a los tiempos de 1', 2', 3' y 4'. Luego se calculó la variación promedio por minuto de la muestra (Δmp). Se realizó el mismo procedimiento con un tubo control de reactivos y se obtuvo también una variación promedio por minuto del control (Δc). La actividad de SOD se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$\text{Unidades SOD / mL sangre} = \Delta\text{c} \cdot \text{Fd} \cdot 1000 / (\Delta\text{mp} \times \mu\text{L de la MP})$$

Siendo Fd el factor de dilución de las muestras.

Dado que la concentración está diluida 30 veces: $\frac{1}{2}$ ($1/5 \times 1/2 \times 1/20$) donde $\frac{1}{2}$ es el volumen empleado de sangre original.

Se define la Unidad SOD a la mitad de la variación promedio por minuto de las absorbancias del tubo control

Obtención de la Actividad de la SOD

Δmp : Variación de absorbancia de la muestra problema

Δc : Variación de absorbancia del control

d : Dilución

Fd : Factor de dilución de la muestra referido a sangre entera: $\frac{1}{d}$

V mp: Volumen muestra problema: 30 μL

1 Unidad SOD..... $\frac{\Delta\text{c}}{2}$

$$X \dots \dots \Delta\text{mp} X = \text{Unidad SOD} \times \frac{\Delta\text{mp}}{\frac{\Delta\text{c}}{2}}$$

$$\text{Unidad SOD} \times \frac{\Delta\text{mp}}{\frac{\Delta\text{c}}{2}} \dots \dots 30\mu\text{L} \times \frac{1\text{ mL}}{1000\mu\text{L}} \times d$$

$$Y \dots \dots \dots 1\text{ mL muestra}$$

$$Y = \frac{\frac{\Delta mp}{\frac{\Delta c}{2}}}{30\mu L \times \frac{1 mL}{1000 \mu L} \times d} = \frac{2 \times 1000 \times \Delta mp}{30 \times d \times \Delta c} = \frac{2 \times 1000 \times \Delta mp \times Fd}{30 \times \Delta c}$$

3.4.6 Determinación de vitamina C en Suero

Para la determinación de la Vitamina C, se mezclaron en un tubo de ensayo 0,2 mL de suero y 0,8 mL de ácido tricloroacético al 10%. Se agitaron vigorosamente los tubos y se colocaron en baño de hielo por 10 min. Luego los tubos fueron centrifugados a 3 000 rpm por 5 minutos y se separó el sobrenadante en otro tubo. Se mezclaron 0,6 mL del sobrenadante con 0,6 mL del reactivo de Folin Ciocalteau, se agitaron vigorosamente los tubos, se dejaron a temperatura ambiente por 10 minutos y finalmente se leyeron las absorbancias del color desarrollado (azul) a 760 nm. Se cuantificó la concentración de vitamina C en cada muestra comparando sus absorbancias con las de una solución estándar de ácido ascórbico con una concentración de 1 mg%

3.4.7 Determinación de Colesterol Total, HDL colesterol y LDL colesterol

El colesterol total se determinó enzimáticamente utilizando las enzimas: Colesterol éster hidrolasa que libera al colesterol de los ésteres de colesterol y Colesterol oxidasa que oxida al colesterol liberado, produciendo peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de la enzima Peroxidasa reacciona con el sistema cromogénico (4-aminoantipirina y el ácido p-hidroxibenzoico) formando un compuesto coloreado que absorbe a 505 nm. Se utilizaron 0,01 mL de suero libre de hemólisis, a los cuales se les agregó 1 mL de reactivo enzimático.

Se mezcló e incubó a 37° C por 10 minutos, para leer la absorbancia con un espectrofotómetro a 505 nm, llevando a CERO con un blanco de reactivo y realizando el cálculo de la concentración de colesterol en la muestra comparando con un estándar de Colesterol Total (200 mg%).

Para la determinación de HDL-colesterol, se utilizaron 0,2 mL de muestra de suero, a los cuales se les agregó en un tubo cónico de microcentrifuga (eppendorf) 0,5 mL de reactivo precipitante selectivo para LDL y VLDL (Ácido fosfotúngstico 0,55 mM y Cloruro de Magnesio 25 mM), se mezcló y dejó en reposo por 15 minutos a temperatura ambiente. Luego los tubos fueron centrifugados por 15 minutos a 3000 rpm y se les separó el sobrenadante para cuantificar colesterol tal y como se explicó en el párrafo anterior.

Para la determinación de LDL-Colesterol se colocaron en un tubo cónico de centrifuga (tipo ependorf) 1 mL de reactivo precipitante selectivo para LDL (Heparina 100 000 U/L y Citrato de sodio 60 mM) y 0,1 mL de muestra de suero, se mezcló y se dejó en reposo por 10 minutos a temperatura ambiente. Luego se centrifugó por 15 minutos a 3500 rpm y se separó el sobrenadante para cuantificar Colesterol. El resultado obtenido representó al colesterol asociado a HDL y VLDL por lo que, al restar el valor obtenido del valor de colesterol total de la muestra, se obtuvo el valor de LDL-colesterol.

3.4.8 Determinación de Triglicéridos

A 0,01 mL de las muestras de suero libres de hemólisis se agregaron 1 mL de un reactivo que contenía gliceroquinasa, glicerol fosfato oxidasa y peroxidasa, se incubaron los tubos por 10 minutos a 37 °C y se leyeron las absorbancias a 520 nm llevando a Cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. La concentración de

triglicéridos en el suero fue obtenida al comparar las absorbancias con las de un estándar cuya concentración era de 200mg% de triglicéridos.

3.4.9 Análisis Estadístico

El presente estudio fue diseñado como un experimento transversal, reportándose los datos a través de promedios y desviación estándar. Con los datos obtenidos se realizaron medidas descriptivas de las variables de estudio las cuales son media, mediana y desviación estándar. Posteriormente se evaluó la distribución de las variables mediante medidas de formas (asimetría y curtosis), métodos gráficos (grafico de cajas, Q-Q plot) y métodos de contraste (Shapiro Wilk).

Se realizó la prueba de t- Student pareada para comparar las medias de peso corporal en cada grupo tomando en cuenta el peso antes de iniciar el tratamiento y el peso después de terminarlo. En aquellas variables cuya normalidad fue demostrada se realizó la prueba ANOVA y a continuación una prueba post hoc (Test de Scheffé). Por el contrario, en aquellas variables en las que no se demostró la distribución normal de los datos obtenidos se utilizaron pruebas no paramétricas como Kruskal Wallis y su respectiva prueba post-hoc (test de Dunn). Para realizar todos estos análisis estadísticos se utilizó el programa SPSS versión 17.0.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Peso del Animal Respecto a los Tratamientos con Maca

En la Tabla 2 se muestra la comparación de pesos promedio de los animales ovariectomizados a los cuales se les mantuvo en diferentes tratamientos con maca.

Tabla 2. Comparación del Peso (g) corporal de las ratas ovariectomizadas antes y después del Tratamiento administrado.

Tratamiento	Peso		
	Inicial	Final	p valor
	($\bar{x} \pm DS$)	($\bar{x} \pm DS$)	
control*	229,8 \pm 11,5	246,6 \pm 11,7	0,040
hormona*	266,0 \pm 3,6	245,6 \pm 16,9	0,007
ext_6,66	248,5 \pm 8,0	256,0 \pm 33,9	0,720
ext_66,6*	271,5 \pm 0,5	281,6 \pm 10,6	0,023
ext_666,6	291,0 \pm 7,6	280,2 \pm 23,5	0,470

* La diferencia entre las medias es significativa por prueba t pareada de Student. (p<0,05).

El análisis estadístico sólo mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los valores de peso en los grupos control, el grupo que recibió la hormona y el grupo que recibió el extracto en concentración 66,6 mg/día del extracto de maca. Sólo en el caso del tratamiento con 66,6 mg/día de extracto de maca se pudo observar un incremento de peso significativamente menor que el grupo control.

4.2 Niveles Hormonales (FSH, LH, Estradiol) y Tratamientos con Maca

En la Tabla 3 se muestra los niveles promedio de hormonas LH, FSH y estradiol presentes en ratas ovariectomizadas y según el tratamiento recibido. Mediante el análisis de varianza (ANOVA) se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para los tres tipos de determinaciones hormonales con respecto a los tratamientos. Se puede observar que los niveles de hormona en sangre tienen un comportamiento descendente para FSH y LH en respuesta a los extractos de maca de la misma manera que el tratamiento hormonal, mientras que los niveles de estradiol comienzan a aumentar progresivamente según aumenta la dosis del extracto de maca.

Tabla 3. Niveles hormonales en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado

Tratamiento	LH* ($\bar{x} \pm DS$)	FSH** ($\bar{x} \pm DS$)	ESTRADIOL** * ($\bar{x} \pm DS$)
control	32,1 \pm 0,4	41,0 \pm 0,4	66,3 \pm 1,6
hormona	22,2 \pm 2,9	17,6 \pm 1,3	97,8 \pm 9,0
ext_6,66	33,2 \pm 1,2	29,0 \pm 0,4	42,3 \pm 0,6
ext_66,6	19,0 \pm 1,0	24,1 \pm 3,1	74,3 \pm 5,8
ext_666,6	21,6 \pm 3,82	18,0 \pm 0,3	150,7 \pm 65,7

*p valor por prueba Anova = 0,000

**p valor por prueba Anova = 0,000

***p valor por prueba Anova = 0,003

En la Tabla 4 se observa las comparaciones múltiples de los niveles hormonales, según tratamiento mediante la prueba Scheffé (prueba post hoc), evidenciándose que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al comparar los grupos de tratamiento.

Tabla 4. Comparaciones múltiples de los niveles hormonales según tratamiento administrado en ratas ovariectomizadas

Comparaciones múltiples	Significancia estadística		
	LH	FSH	ESTRADIO L
control – hormona	0,002*	0,000*	0,342
control - ext.6,6	0,123	0,007*	0,567
control - ext.66,6	0,001*	0,006*	0,437
control - ext.666,6	0,000*	0,041*	0,032*
hormona - ext.6,6	0,004*	0,008*	0,578
hormona - ext.66,6	0,234	0,000*	0,099
hormona - ext.666,6	0,321	0,444	0,988
ext.6,6 - ext.66,6	0,012*	0,098	0,876
ext.6,6 - ext.666,6	0,003*	0,004*	0,006*
ext.66,6 - ext.666,6	0,673	0,001*	0,009*

*Significancia estadística por prueba Post hoc Scheffé

4.3 Evaluación del Estrés Oxidativo y Tratamientos con Maca

4.3.1 Lipoperoxidación

En la Tabla 5 y la Figura 1 se muestran los niveles promedio de lipoperoxidación según tratamiento recibido, encontrándose mediante el análisis de varianza (ANOVA) una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,009$). La menor tasa de lipoperoxidación fue hallada en el grupo que recibió 6,66 mg de extracto de maca ($8,9 \pm 1,1$) y la mayor en el grupo tratado con hormona ($12,6 \pm 2,3$).

Tabla 5. Niveles de lipoperoxidación ($\mu\text{mol/L}$) en ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado

Tratamiento*	Niveles de lipoperoxidación		
	($\bar{x} \pm \text{DS}$)	Mínimo	Máximo
control	9,2 \pm 0,9	8,69	10,85
Hormona	12,6 \pm 2,3	10,38	15,85
ext_6,66	8,9 \pm 1,1	7,77	10,77
ext_66,6	9,3 \pm 1,3	8,15	11,61
ext_666,6	10,9 \pm 1,9	9,38	13,31

*p valor por prueba Anova = 0,009

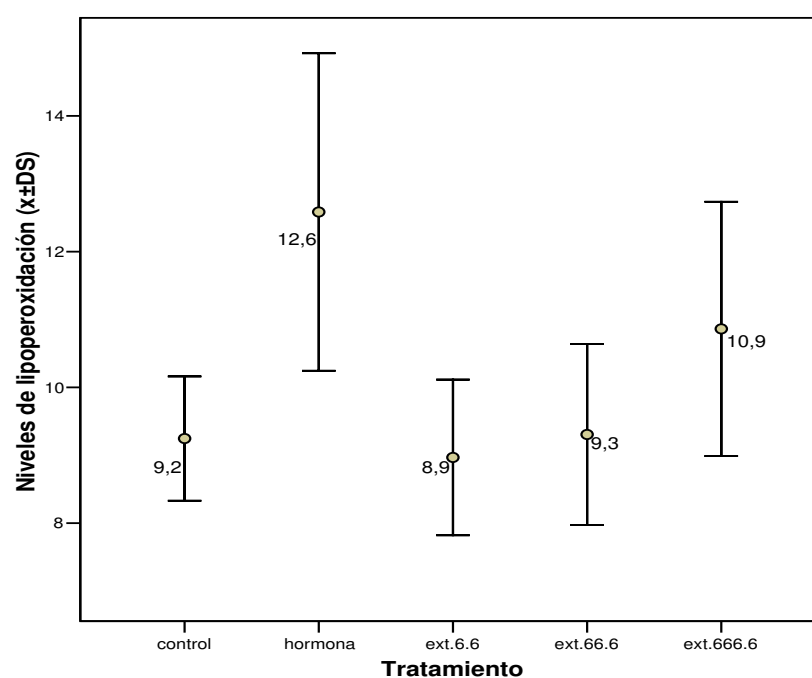


Figura 1. Niveles de lipoperoxidación ($\mu\text{mol/L}$) en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.

En la tabla 6 se presentan las comparaciones múltiples de los niveles de lipoperoxidación, según tratamiento mediante la prueba Scheffé (prueba post hoc), evidenciándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al comparar el grupo tratado con hormona con el grupo tratado con 6.6 mg de extracto de maca.

Tabla 6. Comparaciones múltiples de los niveles de lipoperoxidación según tratamiento administrado en ratas ovariectomizadas.

Comparaciones múltiples	p valor
control – hormona	0,060
control - ext.6,6	0,999
control - ext.66,6	1,000
control - ext.666,6	0,646
hormona - ext.6,6*	0,036
hormona - ext.66,6	0,067
hormona - ext.666,6	0,590
ext.6,6 - ext.66,6	0,998
ext.6,6 - ext.666,6	0,500
ext.66,6 - ext.666,6	0,677

*La diferencia entre las medias es significativa por prueba Post hoc Scheffé

4.3.2 Superóxido Dismutasa (SOD)

La Tabla 6 y la Figura 2 muestran la actividad de Superóxido dismutasa en sangre de ratas ovariectomizadas, determinándose mediante el análisis de varianza (ANOVA), que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,087$) entre los grupos de tratamiento.

Tabla 7. Niveles de superóxidodismutasa(U/mL) en ratas ovariectomizadas según tratamiento.

Tratamiento*	Actividad superóxidodismutasa		
	($\bar{x} \pm DS$)	Mínimo	Máximo
Control	689,4 \pm 98,4	580	812
Hormona	842,8 \pm 51,8	800	933
ext_6,66	52,8 \pm 178	560	1014
ext_66,6	763,0 \pm 35,8	747	827
ext_666,6	778,8 \pm 34,7	747	827

*p valor por prueba Anova = 0,087

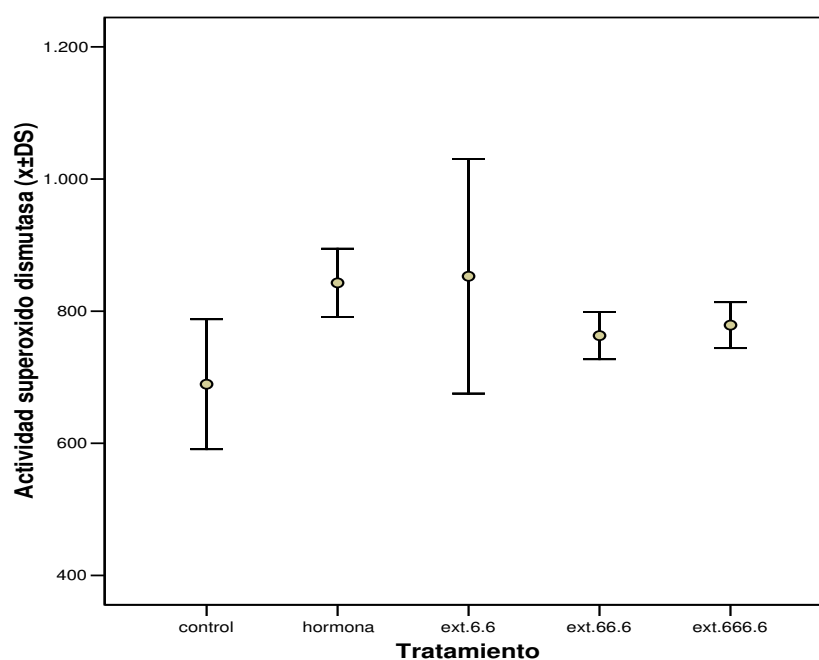


Figura 2. Niveles de superóxidodismutasa(U/mL) en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.

4.3.3 Vitamina C

En la Tabla 8 y Figura 3 se muestra los niveles de vitamina C en las ratas ovariectomizadas, relacionándolos con el tipo de tratamiento administrado, encontrándose mediante el análisis de varianza (ANOVA), que no existe una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,223$).

Tabla 8. Concentración de vitamina C (mg%) en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.

Tratamiento*	Concentración de vitamina C		
	($\bar{x} \pm DS$)	Mínimo	Máximo
Control	0,92 \pm 0,2	0,62	1,16
Hormona	0,56 \pm 0,1	0,49	0,62
ext_6,66	1,00 \pm 0,5	0,67	1,96
ext_66,6	0,96 \pm 0,5	0,53	1,78
ext_666,6	0,65 \pm 0,1	0,53	0,84

*p valor por prueba Anova = 0,223

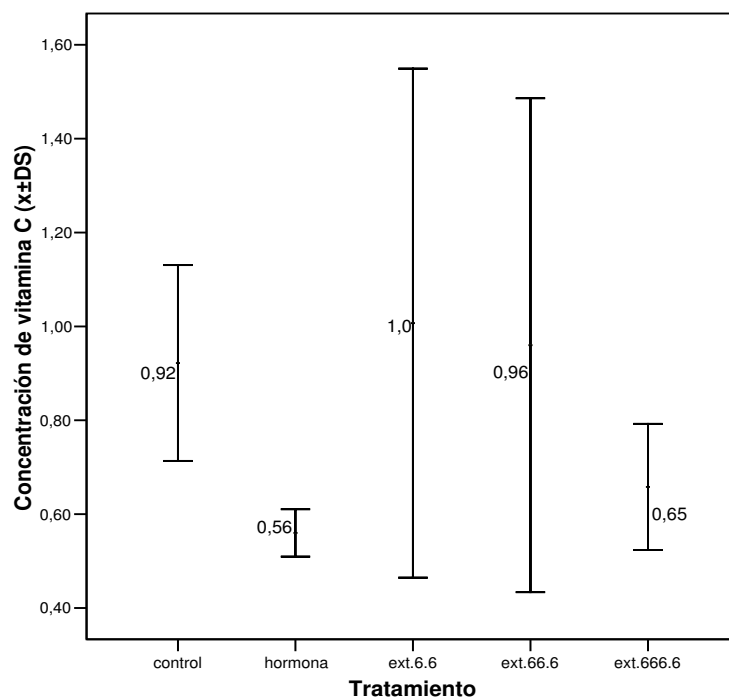


Figura 3. Concentración de vitamina C (mg%) en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.

Aun así, se observa que en el tratamiento hormonal se disminuyó la concentración de vitamina C, mientras que los tratamientos con maca aumentaron gradualmente con la dosis la presencia de esta vitamina, a excepción del tratamiento con mayor contenido de maca.

4.4 PERFIL LIPÍDICO Y TRATAMIENTOS CON MACA

4.4.1 Niveles de Triglicéridos

En la Tabla 9 y Figura 4 se muestra los niveles de triglicéridos en sangre de las ratas mantenidas con los diferentes tratamientos. Al compararse con el grupo control, se puede observar que los niveles de triglicéridos disminuyen significativamente cuando a las ratas se

les administró extracto de maca. El análisis de varianza determinó que las diferencias fueron altamente significativas ($p < 0,01$), y las menores concentraciones promedio se encontraron en el grupo tratado con el extracto 6,66 mg de maca ($72,2 \pm 1,4$) y en el grupo tratado con el extracto 666,6 mg de maca ($84,2 \pm 0,9$). El tratamiento con 66,6 mg/día generó una disminución de triglicéridos similar que el obtenido con el tratamiento hormonal.

Tabla 9. Concentración de Triglicéridos (mg/%) en sangre de ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado.

Tratamiento*	Concentración de triglicéridos		
	($\bar{x} \pm DS$)	Mínimo	Máximo
Control	$32,4 \pm 29,7$	99,0	156,9
Hormona	$117,7 \pm 1,2$	116,0	118,9
ext_6,66	$72,2 \pm 1,4$	70,1	73,5
ext_66,6	$117,0 \pm 1,2$	115,2	118,2
ext_666,6	$84,2 \pm 0,9$	83,0	85,1

*p valor por prueba Anova = 0,000

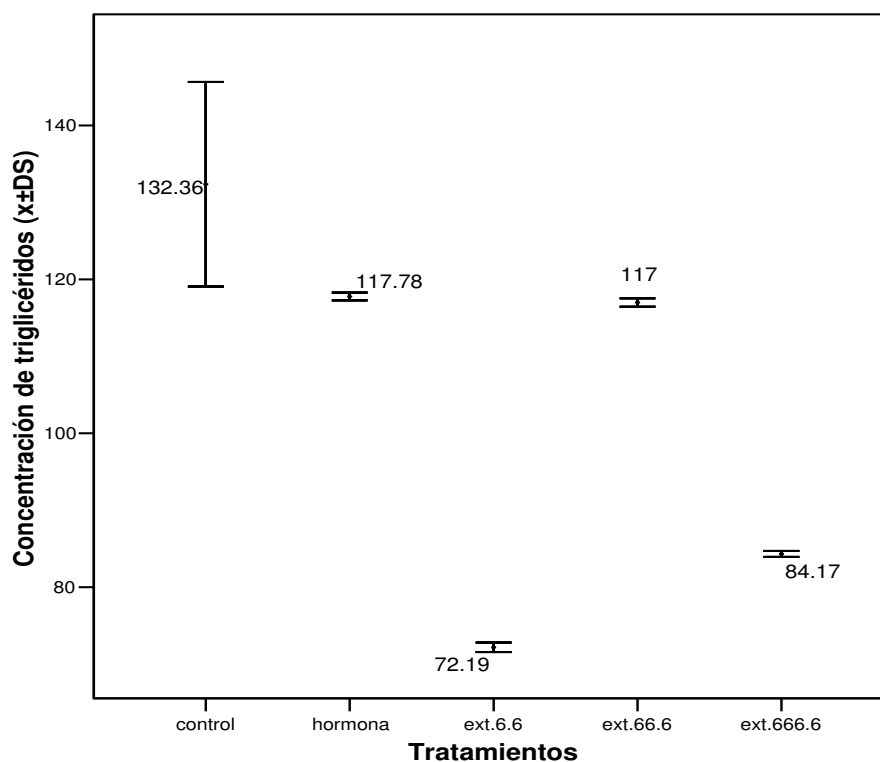


Figura 4. Concentración de triglicéridos (mg%) en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.

En la Tabla 10 se presenta las comparaciones múltiples (entre pares de tratamientos) de la concentración de triglicéridos mediante la prueba Scheffé (prueba post hoc), donde se evidencia que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al comparar los siguientes pares de tratamientos: control-extracto 6,6 mg; control-extracto 666,6 mg; hormona-extracto 6,6 mg; hormona-extracto 666,6 mg; extracto 6.6 mg-extracto 666,6 mg y extracto 66,6 mg-extracto 666,6 mg.

Tabla 10. Comparaciones múltiples de la concentración de triglicéridos según tratamiento administrado en ratas ovariectomizadas.

Comparaciones multiples	p valor
control – hormona	0,571
control - ext.6,6*	0,000
control - ext.66,6	0,521
control - ext.666,6*	0,000
hormona - ext.6,6*	0,001
hormona - ext.66,6	1,000
hormona - ext.666,6*	0,016
ext.6,6 - ext.66,6*	0,001
ext.6,6 - ext.666,6	0,723
ext.66,6 - ext.666,6*	0,020

*La diferencia entre las medias es significativa por prueba Post hoc Scheffé

4.4.2 Niveles de Colesterol Total y Tratamientos Con Maca

En la Tabla 11 y la Figura 5 se muestra la concentración de colesterol total en sangre de las ratas ovariectomizadas. El análisis estadístico mostró que las diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$).

Tabla 11. Concentración de Colesterol total en sangre (mg%) de ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado.

Tratamiento*	Concentración de colesterol total		
	($\bar{x} \pm DS$)	Mínimo	Máximo
Control	104,01 \pm 21.6	86,0	144,4
Hormona	130,12 \pm 19.5	100,0	159,1
ext_6,66	107,82 \pm 21.7	89,5	150,9
ext_66,6	112,83 \pm 18.4	98,2	146,8
ext_666,6	128,37 \pm 24.6	89,5	154,4

*p valor por prueba Anova = 0,143

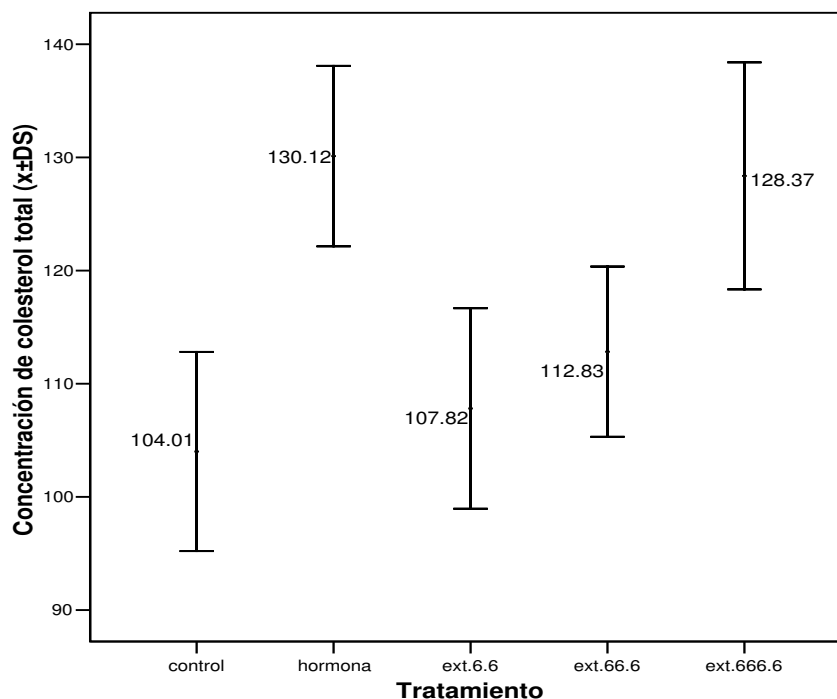


Figura 5. Concentración de colesterol total (mg%) en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.

4.4.3 Niveles de HDL, LDL y tratamientos con maca

En la Tabla 12 y en la Figura 6 muestran la concentración de la fracción de HDL colesterol en sangre en las ratas ovariectomizadas. El análisis de ANOVA determinó que existen diferencias significativas entre estos valores ($P=0,010$), donde la menor concentración promedio se encontró en el grupo que recibió extracto con 66.6 mg de maca ($18,34 \pm 5,76$) y la mayor concentración fue en el grupo que recibió hormona ($32,3 \pm 4,16$).

Tabla 12. Concentración de HDL colesterol en sangre (mg%) de ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado.

Tratamiento*	Concentración de HDL		
	($\bar{x} \pm DS$)	Mínimo	Máximo
Control	24,5 \pm 8,77	13,9	36
Hormona	32,3 \pm 4,16	28,3	39,2
ext_6,66	22,7 \pm 3,89	18,9	29,1
ext_66,6	18,3 \pm 5,76	10,7	24,3
ext_666,6	23,4 \pm 1,92	21,1	25,7

*p valor por prueba Anova = 0,010

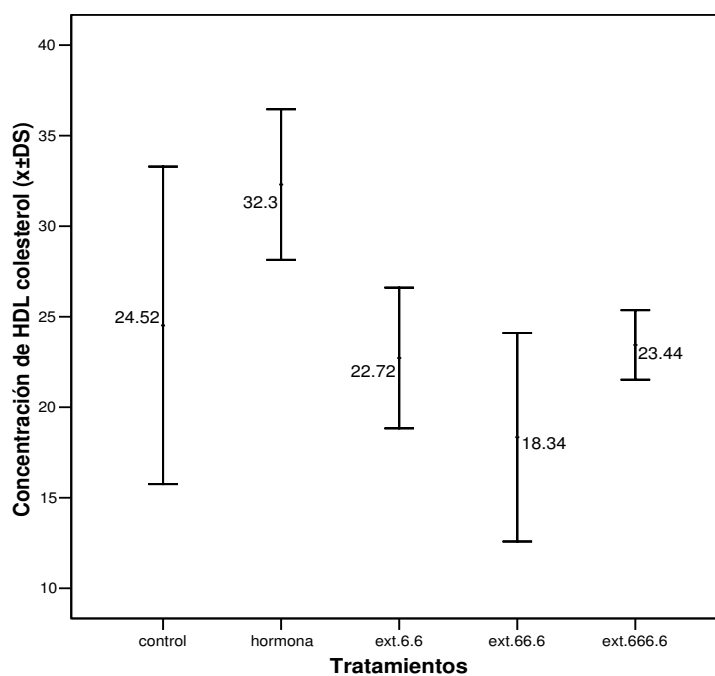


Figura 6. Concentración de HDL (mg%) en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.

En la tabla 13 se presenta las comparaciones múltiples de la concentración de HDL según tratamiento mediante la prueba Scheffé (prueba post hoc), de donde se evidencia que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al comparar el grupo hormona con el grupo que recibió extracto 66,6 mg de maca.

Tabla 13. Comparaciones múltiples de la concentración de HDL según tratamiento administrado en ratas ovariectomizadas.

Comparaciones multiples	p valor
control – hormona	0,306
control - ext.6,6	0,991
control - ext.66,6	0,529
control - ext.666,6	0,999
hormona - ext.6,6	0,139
hormona - ext.66,6*	0,013
hormona - ext.666,6	0,194
ext.6,6 - ext.66,6	0,799
ext.6,6 - ext.666,6	1,000
ext.66,6 - ext.666,6	0,697

*La diferencia entre las medias es significativa por prueba Post hoc Scheffé

En la Tabla 14 y en la Figura 7 se muestra los niveles de LDL colesterol en sangre de las ratas ovariectomizadas según tratamiento recibido, encontrándose mediante el análisis de

varianza (ANOVA) una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,000$), donde la menor concentración promedio se encontró en el grupo tratado con 666.6 mg de extracto de maca ($53,4 \pm 4,4$) y la mayor concentración fue en el grupo control ($101,6 \pm 13,9$).

En la tabla 14 se puede apreciar las comparaciones múltiples de la concentración de LDL según tratamiento mediante la prueba Scheffé (prueba post hoc), en donde se evidencia que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al comparar el grupo control con los demás grupos, así como el grupo tratado con hormona con el que recibió 666,6 mg de extracto de maca y el grupo que tratado con 6,6 mg de maca con el que recibió 666,6 mg de extracto de maca.

Tabla 14. Concentración de LDL colesterol en sangre (mg%) de ratas ovariectomizadas según el tipo de tratamiento administrado.

Tratamiento*	Concentración de LDL colesterol		
	($\bar{x} \pm DS$)	Mínimo	Máximo
Control	$101,6 \pm 13,9$	88	120,6
Hormona	$70,4, \pm 1,01$	68,9	71,6
ext_6,66	$72,9 \pm 2,8$	68	74,8
ext_66,6	$66,9 \pm 2,7$	62,9	69,9
ext_666,6	$53,4 \pm 4,4$	45,6	56,2

*p valor por prueba Anova = 0,000

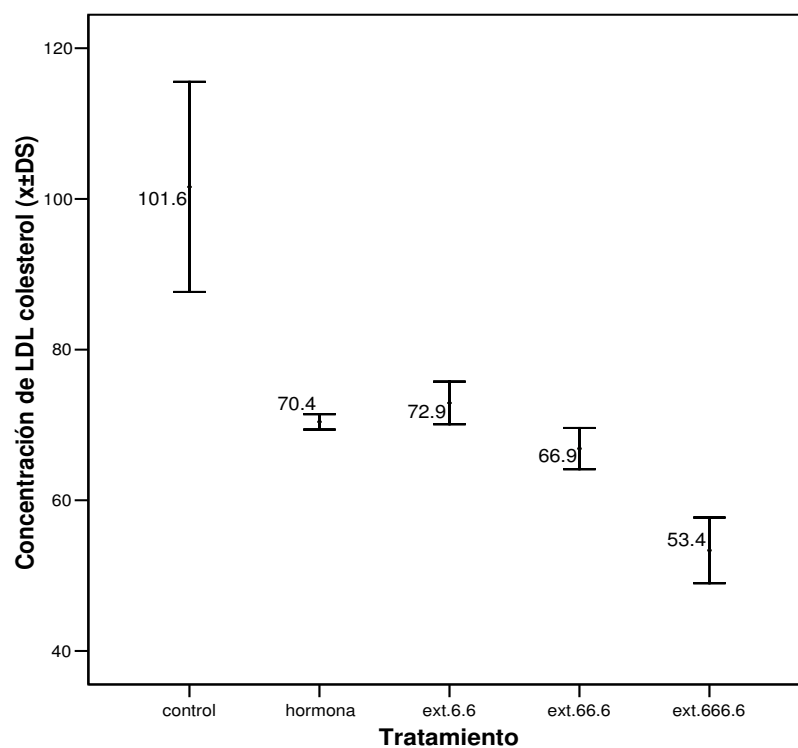


Figura 7. Concentración de LDL (mg%) en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.

Tabla 15. Comparaciones múltiples de la concentración de LDL, según tratamiento administrado en ratas ovariectomizadas.

Comparaciones múltiples	p valor
control – hormona*	0,000
control - ext.6,6*	0,000
control - ext.66,6*	0,000
control - ext.666,6*	0,000
hormona - ext.6,6	0,986
hormona - ext.66,6	0,951
hormona - ext.666,6*	0,016
ext.6,6 - ext.66,6	0,737
ext.6,6 - ext.666,6*	0,005
ext.66,6 - ext.666,6	0,077

*La diferencia entre las medias es significativa por prueba Post hoc Scheffé

4.4.4 Índices lipídicos y Tratamientos con Maca

La Tabla 16 muestra los valores promedio de los índices CT/HDL, LDL/HDL y TG/HDL en ratas ovariectomizadas, observándose que el índice CT/HDL fue mayor en los animales que recibieron tratamiento con diferentes concentraciones de extracto de maca, mientras que el tratamiento hormonal disminuyó este cociente respecto al grupo control. En el caso del índice LDL/HDL, todos los tratamientos experimentales generaron cocientes significativamente menores a los del grupo control ($p < 0,01$), lo mismo que se pudo observar para el cociente TG/HDL, donde las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$), y con la excepción del

tratamiento con extracto de maca a concentración de 66,6 mg, en el cual el cociente promedio fue mayor al del grupo control.

Tabla 16. Índices lipídicos en ratas ovariectomizadas según tratamiento administrado.

Tratamiento	CT/HDL* ($x \pm DS$)	LDL/HDL** ($x \pm DS$)	TG/HDL*** ($x \pm DS$)
control	4,58 \pm 1,54	4,50 \pm 1,34	6,31 \pm 3,45
hormona	4,27 \pm 0,67	2,20 \pm 0,24	3,69 \pm 0,46
ext_6,66	5,08 \pm 1,69	3,29 \pm 0,60	3,24 \pm 0,48
ext_66,6	6,97 \pm 3,95	3,97 \pm 1,35	6,97 \pm 2,42
ext_666,6	5,86 \pm 1,08	2,28 \pm 0,14	3,62 \pm 0,28

*p valor por prueba Anova = 0,299

**p valor por prueba Anova = 0,002

***p valor por prueba Anova = 0,014

En la Tabla 17 se muestra los resultados de las comparaciones múltiples de estos cocientes según la prueba de Scheffé (prueba post-hoc) Se puede observar diferencias significativas ($p < 0,05$) en el cociente LDL/HDL al comparar los grupos control y tratamiento hormonal, así como el grupo control con el del extracto de maca a 666,6 mg.

Tabla 17. Comparaciones múltiples de los índices lipídicos por tratamiento administrado según la prueba de Scheffé.

Comparaciones múltiples	p valor		
	CT/HDL	LDL/HDL	TG/HDL
control – hormona	1,000	0,014*	0,355
control - ext.6,6	0,997	0,367	0,212
control - ext.66,6	0,545	0,924	0,989
control - ext.666,6	0,920	0,018*	0,327
hormona - ext.6,6	0,983	0,474	0,997
hormona - ext.66,6	0,423	0,083	0,162
hormona -ext.666,6	0,838	1,000	1,000
ext.6,6 - ext.66,6	0,740	0,837	0,086
ext.6,6 - ext.666,6	0,986	0,543	0,999
ext.66,6 - ext.666,6	0,951	0,104	0,146

*La diferencia entre las medias es significativa por prueba Post hoc Scheffé

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

5.1 Peso del Animal Respecto a los Tratamientos con Maca

Los resultados obtenidos en el presente trabajo (Tabla I) muestran que, comparando los pesos iniciales con los pesos finales respectivos, las ratas ovariectomizadas del grupo Control incrementaron el peso corporal en un 7,3%. En mujeres por encima de los 40 años, se considera que el desequilibrio hormonal asociado a la menopausia puede generar un cuadro de hipotiroidismo subclínico, con un posible aumento de la TSH, lo que genera un mayor almacenamiento de grasa y por tanto un aumento de peso (Borowiecka, 2010). El grupo que recibió β -estradiol sufrió una reducción de peso en un 8,1%. La administración de maca también produjo una disminución en el peso (aunque no estadísticamente significativa) dependiente de la dosis del extracto usado. Serag el Din (2011) hallaron que el peso corporal de ratas albinas Wister adultas disminuía de manera inversamente proporcional a la cantidad de soya cocida administrada por un periodo de tres meses, considerando que estos resultados se debían a la disminución significativa de triglicéridos y del colesterol en estos animales. Considerando que tanto en soya como en maca se encuentran diversos compuestos hipolipemiantes como las isoflavonas, se puede considerar que la ovariectomía genera un incremento de peso debido al hipoestrogenismo, el cual es revertido por tratamiento hormonal. Los tratamientos con maca generan una tendencia a la disminución de peso, llegando a un 2,5% de reducción de peso en el tratamiento con la mayor concentración de maca. Estos resultados sólo deben considerarse como

efecto de la maca sobre el hipoestrogenismo producido por la ovariectomía, ya que otros trabajos en ratones blancos machos y hembras mostraron que las curvas de crecimiento en todos los grupos alimentados con extractos del hipocótilo de maca amarilla fueron significativamente mejores que los del grupo control, demostrando así su valor nutricional (Valentova, 2008).

El análisis estadístico arrojó diferencias significativas tanto en el grupo control, el grupo que recibió tratamiento hormonal, y el grupo que recibió una dosis de 66.6 mg/día del extracto de maca, grupo que en vez de disminuir el peso, tuvo un incremento de peso (12,8 g), menor que en el grupo control (16,8g). Las diferencias no presentan la misma significancia estadística en los diferentes tratamientos, hecho que podría deberse a que los grupos experimentales estaban conformados por animales con diferentes pesos iniciales, tal como se puede apreciar en la Tabla I al comparar los pesos iniciales promedios y las desviaciones estándar dentro de cada grupo y entre los grupos diferentes.

La recomendación, entonces, estaría dirigida a realizar un trabajo a mayor escala con respecto al efecto de los extractos de maca sobre el peso de ratas ovariectomizadas, homogenizando mucho más los grupos en cuanto a tamaño, edad y peso de los animales. Es importante considerar un aspecto que debe aclararse en trabajos futuros en cuanto a si los tratamientos generan un incremento de peso debido a sus propiedades nutricionales y energéticas, y si el incremento es menor o más bien se disminuye el peso de las ratas ovariectomizadas debido a la acción de los fitoestrógenos, los cuales producen efectos estrogénicos o anti-estrogénicos (Zenico, 2009).

5.2 Niveles Hormonales (Fsh, Lh, Estradiol) Y Tratamientos Con Maca

La Tabla 2 muestra que los niveles de la FSH y la LH disminuyen en respuesta al tratamiento hormonal o con extracto de maca (a excepción del tratamiento con 6,66 mg en el caso de LH), y que los niveles de estradiol se incrementan en todos los tratamientos, lo que estaría de acuerdo con Nelson (2005) quien indicó que durante la transición menopáusica temprana, los niveles de estrógeno permanecen normales o en ciertos casos se elevan ligeramente. Conforme progresa la menopausia, los niveles de estrógeno disminuyen marcadamente y la hormona folículo estimulante aumenta.

Los cambios fisiológicos de la perimenopausia se van produciendo de forma progresiva. Al principio disminuye la duración de los ciclos menstruales a expensas de la fase folicular y aumentan los niveles de FSH para compensar el descenso del número de folículos ováricos. Luego, la maduración folicular ocurre de forma esporádica, alternando ciclos ovulatorios y anovulatorios. Cuando la menopausia se ha establecido los folículos ováricos están atrésicos (degenerados) y no responden a la estimulación por FSH, la cual se encuentra francamente elevada (en humanos, >40 UI/L) y los niveles de estradiol están muy disminuidos. Una pequeña cantidad de progesterona se produce en la glándula adrenal. La función endocrina del ovario disminuye progresivamente a medida que lo hacen los folículos ováricos. El principal estrógeno producido por el ovario es el estradiol. El descenso progresivo en su secreción, así como de progesterona e inhibina, disminuye el *feedback* negativo aumentando la producción de hormona folículoestimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH) por la adenohipófisis. En seres humanos, el incremento de FSH comienza hasta 10 años antes de la menopausia y es más marcado que el de LH. Las células del estroma ovárico continúan produciendo testosterona aunque en menor grado que en la fase premenopáusica. Las glándulas

adrenales y los ovarios sintetizan androstendiona. Ambos andrógenos son aromatizados a estrona en los tejidos periféricos, principalmente el tejido adiposo. Este estrógeno, mucho menos potente que el estradiol, es el principal tras la menopausia (Becerra-Luisi, 2013).

5.3 Evaluación del Estrés Oxidativo y Tratamientos con Maca

Es conocido que en la menopausia se manifiestan cambios neuroendocrinos que afectan el estado psicológico de la mujer y se incrementa la morbimortalidad femenina por afecciones como la aterosclerosis, la osteoporosis y el cáncer. Estudios recientes relacionan la etiología de muchas de estas afecciones con alteraciones en el estrés oxidativo, mientras otros demuestran el poder antioxidante de los estrógenos (Cabrera, 2006).

5.3.1 Lipoperoxidación

Se espera que la ovariectomía aumente los niveles de malondialdehído (MDA), un marcador de los productos finales en el proceso peroxidativo de lípidos, y disminuya los niveles de las enzimas antioxidantes superóxidodismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) (Ha, 2006). El MDA es utilizado usualmente como un marcador de los niveles de lipoperoxidación y, para su medición, se utiliza usualmente el ácido tiobarbitúrico, aunque es más apropiado reportar los resultados como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) más que como niveles de MDA, ya que se ha mostrado que durante el ensayo también se pueden formar otros productos (Adam y col., 2008). En la presente Tesis (Tabla 4 y Fig. 1) se ha encontrado que el tratamiento con estradiol incrementó los niveles de lipoperoxidación con respecto a

los del grupo control, y que la dosis más baja de maca (6,66 mg) generó una disminución significativa de la lipoperoxidación con respecto al grupo control, con una tendencia de incremento directamente proporcional a la concentración de maca. Estos resultados pueden ser considerados como opuestos a los descritos por la literatura; debido a que se espera que tanto el reemplazo hormonal como la administración de algún agente antioxidante disminuyan los niveles de estrés oxidativo.

Estudios realizados por Oztekin (2007) con 36 ratas hembras Sprague-Dawley, distribuidas en 6 grupos, con animales ovariectomizados y pinealectomizados, y con ratas que recibieron suplementos de estradiol y progesterona, comprobaron que el retiro quirúrgico del ovario y la glándula pineal incrementó los niveles de MDA y disminuyó la actividad de la Glutathionperoxidasa (GPx), lo que se espera que favorezca la actividad de agentes oxidantes y la lipoperoxidación en el hígado. En cambio, la administración de estradiol y progesterona a estas ratas generó una protección significativa contra la lipoperoxidación hepática, aumentando la presencia del glutatión reducido y de la actividad GPx, considerados como los principales protectores del daño oxidativo.

Cuando se realizó la reposición estrogénica en ratas ovariectomizadas durante 28 días, se pudo observar un aumento de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, atenuando la lipoperoxidación. Además, en ratas machos se ha podido determinar una mayor lipoperoxidación cardiaca que en las hembras, en un mismo grado que en las ratas ovariectomizadas, indicando entonces un posible efecto antioxidante del estrógeno. Todo esto hace suponer que el estrógeno, además de tener una característica de agente antioxidante en sí, puede actuar como un modulador de la acción de los antioxidantes enzimáticos como de los no enzimáticos y, de esta forma, mantener el equilibrio entre los

factores pro-oxidantes y antioxidantes (Omar, 2012). Oré (2008) halló que en ratas machos hipercolesterolémicas, la administración de maca ejerció un mayor efecto protector contra el daño oxidativo al disminuir los niveles de TBARS-MDA en un 67,7% e incrementar los valores de vitamina C en un 87,7% respecto al control positivo. Sin embargo, existen trabajos que no muestran diferencia significativa en los niveles de estrés oxidativo entre mujeres pre y post-menopáusicas, utilizando TBARS en plasma como indicador de estrés, tampoco sin evidenciar una relación inversa entre los niveles estrogénicos y los indicadores de estrés oxidativo (Escalante, 2009). Shehata, (2008) comparó los niveles de estrés oxidativo y el estado oxidativo de LDL en mujeres post-menopáusicas con y sin terapia de reemplazo hormonal (TRH), encontrando que, si bien es cierto que la TRH modifica el perfil lipídico de estas mujeres, no parece influenciar el estatus oxidativo, ya que no se observaron diferencias significativas entre las mujeres post-menopáusicas que recibieron TRH y el grupo control en cuanto a los niveles circulantes de vitaminas antioxidantes (beta-caroteno, vitamina C, vitamina E-triglicéridos) y la capacidad antioxidante total del plasma, medida por los niveles de TBARS. Unfer (2006) compararon la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, catalasa y GPx), así como los niveles de lipoperoxidación medida como TBARS en mujeres post-menopáusicas con y sin TRH, comparándolas con un grupo de mujeres pre-menopáusicas, encontrando que los niveles de TBARS y las actividades de catalasa y GPx no fueron significativamente diferentes entre los tres grupos de estudio y sólo la actividad SOD fue significativamente más bajo en el grupo de mujeres post-menopáusicas que en los otros dos grupos, con una correlación positiva a la duración de la TRH. Todos estos resultados sugieren la necesidad de desarrollar estudios más intensivos al respecto.

5.3.2 Actividad Superóxido Dismutasa (SOD)

Según las referencias bibliográficas, se podría esperar que la actividad SOD disminuya por acción de la remoción de los ovarios, lo que aumentaría el daño oxidativo (Muthusami, 2005). Los resultados del presente trabajo muestran que los niveles de SOD circulantes aumentan en relación al grupo control (ratas ovariectomizadas sin TRH) cuando se les administra estradiol o maca (Tabla 6 y Fig. 2). La detección de la actividad superóxidodismutasa en sangre debe ser analizada cuidadosamente, debido a que existen tres isoformas de esta enzima: la citoplasmática que contiene Cu-Zn, la mitocondrial que contiene Mn y una forma extracelular que también contiene Cu-Zn (Omar, 2012), siendo la forma mitocondrial la principal isoforma con actividad protectora antioxidante, al igual que la glutatión peroxidasa (Ha, 2006). Si se detecta la actividad SOD en sangre, esto puede deberse a la presencia de la forma extracelular o de las formas intracelulares que, por daño tisular, son liberadas al torrente sanguíneo. Borrás (2005) demostró que los estrógenos protegen a las hembras contra el envejecimiento por un control positivo de la expresión de genes relacionados a la longevidad (“genes antioxidantes”) tales como GPx y la Mn-Superóxido dismutasa (Mn-SOD). Sivritas (2011) demostró que el estradiol induce la superexpresión de SOD extracelular y Mn-SOD en células del músculo liso vascular.

La literatura señala que no existe daño hepático en experimentos con administración de extractos de maca, ya que los valores de marcadores hepáticos como la transaminasa glutámico oxalacética (TGO) y la transaminasa glutámico pirúvica (TGP) no se alteran significativamente (Castañeda, 2007). Así mismo, Oré (2008) mostró que el tratamiento de ratas hipercolesterolémicas con harina de maca amarilla

producía una disminución de las enzimas séricas marcadoras de daño hepático (fosfatasa alcalina, TGO, TGP y gamma-glutamyltransferasa). De estos trabajos, puede suponerse que los extractos de maca tendrían un efecto hepatoprotector debido a la actividad antioxidante generada por la presencia de polifenoles y flavonoides (Oré, 2008). La actividad SOD medida en el presente trabajo es mayor en los tratamientos con maca que la del grupo control, aunque disminuye a medida que aumenta la concentración del extracto, lo que podría relacionarse a una protección hepática por parte de la maca, sobre todo a una concentración de 6,66 mg/día. Esta sugerencia sólo podría confirmarse o descartarse si se realizaran nuevos experimentos enfocados específicamente en el daño del tejido hepático producto del retiro quirúrgico del ovario y su posible reversión con la administración de estrógenos o fitoestrógenos.

5.3.3 Niveles de vitamina C

Los resultados del presente trabajo muestran que, la administración de estradiol (50 µg/kg de peso) generó una disminución significativa de vitamina C respecto al control (Tabla 7 y Fig. 3), aunque en el caso de los grupos que recibieron tratamiento con maca, hay un aumento de los niveles circulantes de esta vitamina (en todos los casos mayores a los niveles asociados al tratamiento hormonal) de una manera inversamente proporcional a la concentración del extracto. Es interesante observar que este mismo comportamiento inverso se encontró cuando se determinaron los niveles de SOD en los grupos tratados con maca. Esto podría sugerir que el tratamiento con 6,66 mg/día estaría activando la síntesis de estos agentes antioxidantes en las ratas

ovariectomizadas, existiendo un fenómeno de saturación (mayores concentraciones de maca inhiben la síntesis de estos dos agentes antioxidantes), quizá porque a mayor concentración de maca, la cantidad de agentes antioxidantes del extracto serían suficientes para afrontar el estrés oxidativo producido por la ovariectomía.

Muchos mamíferos pueden sintetizar vitamina C a partir de glucosa. Gatos y perros producen 5 a 40 mg/día/kg de peso corporal; las cabras, de 32 a 190; y las ratas de 40 a 200 mg (Levine, 1986). Se ha observado en ratas que la síntesis de vitamina C ocurre en el hígado y dosis altas ingeridas pueden inhibir su síntesis (Naziroglu, 2011), lo que podría utilizarse para confirmar la sugerencia planteada al final del párrafo anterior: si existen otros agentes antioxidantes ingeridos por los animales, esto también podría bloquear la síntesis de esta vitamina. Los humanos, primates y cobayos no pueden sintetizar esta vitamina debido a que se ha perdido la actividad del gen para la gluconolactona oxidasa. Las funciones de la vitamina C están relacionadas a su función como agente reductor (donador de electrones), que previene la oxidación de otros compuestos. Al perder un electrón se genera el radical libre ascorbilo, el cual es relativamente estable y poco reactivo. Si el radical ascorbilo pierde un segundo electrón, se genera el ácido dehidroascórbico.

Participa como donador de electrones en reacciones mediadas por ocho enzimas, tres de las cuales participan en la hidroxilación del colágeno, dos son necesarias para la síntesis de carnitina, una participa en la síntesis de epinefrina a partir de norepinefrina, una agrega grupos amida a las hormonas peptídicas para aumentar grandemente su estabilidad, y la última modula el metabolismo de la tirosina (Lazzeroni, 2011).

La vitamina C es absorbida principalmente a nivel de íleo y yeyuno, mientras que el ácido dehidroascórbico es absorbido en menor

frecuencia a nivel de duodeno y yeyuno. En el intestino, la vitamina C aumenta la biodisponibilidad del hierro manteniendo el hierro no-hemo en estado ferroso, además de promover la actividad de la reductasa férrica duodenal, ambas maneras contribuyen en aumentar la absorción de hierro. Otra actividad de esta vitamina en el organismo es ayudar a regenerar el alfa-tocoferol, la forma activa de la vitamina E, otro potente antioxidante exógeno (Schlueter y Johnston, 2011). La vitamina C interviene en las reacciones de óxido reducción tisular disminuyendo la peroxidación lipídica, lo cual puede relacionarse con una disminución en la formación de placas de ateromas. Uno de los efectos importantes de la vitamina C es la activación de la lipoproteína-lipasa, la cual es una enzima relacionada con la ruptura y absorción de los triglicéridos en la sangre y el aumento de la tasa basal de lipólisis adrenérgica en el tejido adiposo (Khan, 2010).

El ascorbato puede actuar como un agente antioxidante o prooxidante, dependiendo de sus concentraciones y las del agente oxidante administrado. Por ejemplo, cobayos y ratas con síndrome de osteodistrofia (ODS), quienes no sintetizan esta vitamina, fueron protegidos de la acción oxidante del tetracloruro de carbono, pero cuando se utilizó aloxano como agente oxidante, las ratas aumentaron los niveles de estrés oxidativo al suplementarse con vitamina C. También hubo acción protectora del ascorbato cuando se administró antes del agente oxidante paraquat, pero la vitamina aceleró el estrés oxidativo cuando se administró después de la ingestión de este compuesto (Lazzeroni, 2011).

5.4 Perfil Lipídico y Tratamientos con Maca

Al analizar las fracciones lipídicas en sangre se observó que el incremento de peso en los animales del grupo control está en relación

directa con un incremento de lípidos en sangre. Los niveles de triglicéridos (Tabla 8 y Figura 4) son menores en los animales que fueron tratados con hormona y con las diferentes concentraciones de maca, apreciándose una mayor reducción en los tratamientos de 6,66 y 666,66 mg de maca. La tendencia observada es que los extractos con maca, sin considerar el incremento elevado en el tratamiento con 66,6 mg/día, presenta una tendencia positiva en relación a la concentración del extracto. Este aumento de triglicéridos podría relacionarse con la disminución progresiva de vitamina C discutida en la sección anterior ya que, como fue indicado, esta vitamina es activadora de la lipoproteína lipasa, y si la vitamina C disminuye en sangre, esto podría disminuir la actividad de la enzima y por lo tanto mantener elevados los niveles de triglicéridos presentes en quilomicrones y VLDL circulantes.

En el caso del colesterol total (Tabla 10), las diferencias no fueron estadísticamente significativas; no obstante, las concentraciones de HDL-colesterol en sangre (Tabla 11) sí presentaron diferencias significativas, aunque el mayor incremento de esta fracción con respecto al grupo control sólo pudo ser observado en el grupo tratado con hormona y no se evidencia un incremento inverso o directo en relación a la concentración de los extractos de maca. Caso contrario fue hallado al determinar la concentración de LDL-colesterol (Tabla 13), donde la reducción de esta fracción fue significativamente menor en todos los tratamientos de maca, siguiendo una relación inversa a la concentración del extracto. Según lo descrito, una conclusión general sería que los extractos de maca mejoran el perfil lipídico y, principalmente, la mayor administración del extracto de maca (666,66 mg/día) logra reducir significativamente los niveles de triglicéridos y los niveles de LDL-colesterol. La posibilidad de la maca de disminuir los niveles de LDL-colesterol (LDLc) es un resultado muy interesante, debido a que, en humanos, se considera que la disminución de esta fracción lipídica puede llegar a disminuir en un tercio el riesgo de enfermedades cardiovasculares, aunque en la actualidad se está prestando mayor

atención a la manera de elevar los niveles de HDL-colesterol, debido a su efecto cardioprotector atribuido a su rol en el transporte inverso del colesterol y sus efectos sobre las células endoteliales, así como por su actividad inhibitoria de la oxidación de las LDL (Badeam, 2013).

Sin embargo, es necesario seguir investigando si el efecto protector es por la modificación de las fracciones lipídicas o si es por la acción antioxidante de los extractos de plantas. La literatura señala que cualquier tipo de tratamiento antioxidante puede revertir el riesgo aterogénico. Al-Jamal y Algadi (2011) administraron un extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* Linn. a ratas normales y diabéticas inducidas por estreptozotocina, encontrando a las 4 semanas de tratamiento, sobre todo en el grupo de las ratas diabéticas, una disminución significativa no sólo de los niveles de glucosa sanguínea, sino de triglicéridos (24%), colesterol total (22%) y LDL-colesterol (27%), así como un aumento también significativo de HDL-colesterol (18%). Los autores atribuyeron este efecto a la actividad antioxidante del ácido cafeico y sus derivados, compuestos de naturaleza polifenólica, los cuales inhiben la aterosclerosis debido a su acción antioxidante.

Castañeda (2003) evaluó el efecto de Maca *Lepidium meyenii* Walpers y de chocho *Lupinus mutabilis* Sweet en ratas hembras sobre los valores de hematocrito, hemoglobina, glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL, LDL, proteínas totales, albúmina, TGO, TGP y peso corporal, después de 15 y 30 días de tratamiento. Sus resultados indicaron un aumento de los niveles de triglicéridos en sangre por efecto de *Lupinus* (de 45,9 a 76,55 mg/dL) con respecto al control, que varió de 43,5 a 61,8 mg/dL y en el grupo que recibió maca, las variaciones fueron de 43,5 a 56,7 mg/dL. Los análisis estadísticos entre el grupo control y los dos tratamientos no fueron significativos. Los valores de colesterol total, HDL y Triglicéridos se elevaron significativamente en los tres grupos respecto al control, pero sin mostrar diferencias entre los tres grupos (agua, maca y *Lupinus*). El LDL se elevó significativamente en el grupo

control (agua), pero no en los grupos tratados con maca y *Lupinus*. En todos los parámetros del perfil lipídico, estos autores encontraron una notoria elevación en los tres grupos de animales, pero sin apreciar diferencias estadísticamente significativas en los dos grupos con tratamiento experimental en relación al control, lo que les llevó a plantear la hipótesis de que, tanto la maca como el *Lupinus* no producen cambios metabólicos significativos en ratas. Al igual que lo mencionan estos autores, se necesitarán mayores estudios (incluso en humanos) para demostrar si existe o no un efecto de los tratamientos con chocho y maca sobre las fracciones lipídicas.

Existen otros trabajos que pueden concordar con los resultados hallados en la presente Tesis. Večeřa (2007) analizaron el efecto de maca sobre parámetros lipídicos, antioxidativos y de glucosa en ratas hipertrigliceridémicas, encontrando que la maca disminuyó significativamente los niveles de VLDL, LDL y colesterol total, y también el nivel de triacilgliceroles en plasma y VLDL en hígado. Oré (2008) mostró que la administración de maca en ratas hipercolesterolémicas redujo los niveles de colesterol, LDL-colesterol y triglicéridos respecto al control positivo.

Estos efectos hipolipemiantes podrían ser similares a los producidos por la terapia de reemplazo hormonal en mujeres perimenopáusicas. Fernandes (2008) observaron un aumento estadísticamente sustancial en los niveles de HDL al final del tratamiento con estradiol, así como una disminución estadísticamente significativa de los valores de LDL, por lo que hubo una disminución estadísticamente importante en la relación LDLc/HDLc en este grupo, en contraste con el aumento estadísticamente significativo en el grupo que recibió placebo. Se observó una correlación directa estadísticamente sustancial entre el tratamiento con Estradiol y los niveles de HDL.

Es interesante señalar la importancia de los cocientes o proporciones entre las fracciones lipídicas. En humanos, se utilizan generalmente tres cocientes para el análisis de las fracciones lipídicas: la proporción aterogénica I de Castelli (CT/HDL-c), la proporción aterogénica II de Castelli (LDL-c/HDL-c) y el índice cardiometabólico TG/HDL-c (Pinheiro , 2009), aunque se ha propuesto principalmente al cociente CT/HDL para evaluar el riesgo aterogénico, evitando así la determinación de los triglicéridos y de esa forma evitar la toma de muestra de suero en ayunas para el cálculo del LDL-colesterol (Subbarayam , 2011). Chávez (2011) determinó el índice I de Castelli en mujeres perimenopáusicas, encontrando una correlación lineal directa del valor del índice con la edad de la mujer, con valores mayores en mujeres postmenopáusicas que en premenopáusicas.

Los resultados de la Tabla 15 muestran diferencias significativas en los cocientes de riesgo de accidente cardiovascular LDL/HDL y TG/HDL. En el cociente CT/HDL las diferencias no fueron significativas. En el caso del cociente LDL/HDL, los valores disminuyeron significativamente en todos los tratamientos; esta disminución es beneficiosa y se debe a la reducción significativa de la fracción de LDLc. En el cociente TG/HDL, con la excepción del tratamiento con 66,6 mg de maca los valores también disminuyeron, en este caso debido a la disminución significativa de triglicéridos. Es interesante observar estas fluctuaciones en los tres cocientes, ya que estos valores son considerados como indicadores de riesgo de accidente cardiovascular.

En seres humanos, la relación CT/HDL es considerada como la más predictiva para aterosclerosis: cuanto más grande es el valor de este cociente, mayor es el riesgo para un evento clínico (Holvoet, P. y col., 2008). La NCEP (NationalCholesterolEducationProgram) define los valores de riesgo cardiovascular como $CT/HDL > 4$ y $LDL/HDL > 3$ para la edad adulta, mientras que la literatura española utiliza como criterios de riesgo $CT/HDL > 3,5$ y $LDL/HDL > 2,2$ para la población infantil española

(Subbarayam, A., y col., 2013). Otro índice que se considera con mayor correlación con el número de arterias esclerosadas en adultos con coronariopatías es el IAT o índice aterogénico, el cual resulta del siguiente cálculo: $IAT = CT - HDL \times Apo B / HDL \times Apo A$ (Ucar, 2007).

Por lo expuesto, los resultados de la presente tesis sugieren que la administración de extractos de maca a ratas ovariectomizadas generan una actividad similar que el tratamiento hormonal en cuanto a la disminución de LH y FSH y el aumento de estradiol, así como la disminución de los niveles de triglicéridos y LDL en sangre, lo que generaría una disminución de los cocientes LDL/HDL y TG/HDL, valores que podrían estar relacionados con una disminución del riesgo aterogénico.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

En el modelo ensayado:

1. La máxima dosis de maca (666,6 mg%) produjo una disminución de peso corporal en las ratas ovariectomizadas.
2. La máxima dosis de maca igualmente generó una disminución en los niveles de triglicéridos, LDL-colesterol, por lo que se le puede asociar a una disminución del riesgo cardiaco.
3. Las diversas dosis de maca disminuyen los niveles de FSH y LH con diferencias significativas mayores para FSH que LH.
4. Los indicadores del balance oxidativo no muestran variaciones significativas.
5. El extracto de maca en concentración 666,6 mg% constituye una potencial fuente alternativa para disminuir LDL en situación de menopausia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adam, S. K., Soelaiman, I. N., Umar, N. A., Mokhtar, N., Mohamed, N., & Jaarin, K. (2008). Effects of Repeatedly Heated Palm Oil on Serum Lipid Profile, Lipid Peroxidation and Homocysteine Levels in a Post-Menopausal Rat Model. *McGill Journal of Medicine*, 11(2), 145-151. Recuperado el 27 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2582674/>
2. Al-Jamal, A. R., & Algadi, T. (2011). Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on Lipid Profile of Diabetic Rats. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 4(4), 199-204. Recuperado el 22 de agosto de 2013 de: <http://jjbs.hu.edu.jo/files/v4n4/Paper%20Number%202.pdf>
3. Assman, G., Gotto, J., & A, M. (2004). HDL Cholesterol and Protective Factors in Atherosclerosis. *Circulation*, 109:III-8 - III-14. Recuperado el 22 de agosto de 2013 de: http://circ.ahajournals.org/content/109/23_suppl_1/III-8.full
4. Badeau, RM., Metso, J., Kovanen, PT., Lee-Rueckert M., Tikkanen, MJ., Jauhiainen, M. (2013). The impact of gender and serum estradiol levels on HDL-mediated reverse cholesterol transport. *European Journal of Clinical Investigation*, 43(4), 317-323. Recuperado el 20 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23397902>

5. Ballagh, S.A. (2005). Vaginal hormone therapy for urogenital and menopausal symptoms. *Seminars in Reproductive Medicine*, 23, 2,126-140. Recuperado el 27 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15852198>

6. Bolaños, R., Del Castillo, A., Francia, J. (2010). Soy isoflavones versus placebo in the treatment of climacteric vasomotor symptoms: systematic review and meta-analysis. *Menopause*, 17(3), 660-6. Recuperado el 27 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20464785>

7. Borowiecka, M., Polac, I., Nowak, P., Radwan, P., Ponczek, M.B., Wachowicz, B. (2010). Changes in hemostatic parameters after oral hormone therapy in postmenopausal women. *Journal of Women's Health*. 19(12):2267-70. Recuperado el 20 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21054215>

8. Borrás, C., Gambini, J., Gómez-Cabrera, C., Sastre, J., Pallardó, F. V., Mann, G. E., et al. (2005). 17 -oestradiol up-regulates longevity-related, antioxidant enzyme expression via the ERK1 and ERK2/NF B cascade. *Aging Cell* , 4, 113-118. Recuperado el 30 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16966488>

9. Cabrera, T., Guevara, E., Cuza, L., Domech, A., & Urbizo, R. (2006). Estudio preliminar de indicadores del estrés oxidativo y los síntomas que aquejan con mayor frecuencia a las mujeres climatéricas: Ciudad de Matanzas. *Revista Médica Electrónica*, 28(3) Recuperado el 20 de setiembre de 2013 de: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202006/vol3%202006/tema08.htm>

10. Capote, M.I., Segredo, A.M., Gomez, O. (2011). Climaterio y menopausia. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 27 (4) 543-557. Recuperado el 10 de setiembre de 2013 de:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252011000400013

11. Castañeda, B.; Castro de la Mata, R.; Manrique, R.; Ibañez, L. 2007. Efectos metabólicos de *Lepidiummeyerii* Walpers, “MACA” y *Lupinus mutabilis* Sweet, “CHOCHO” en ratas. *Horizonte Médico*. 7(1): 32 – 38.
12. Chang, R.W., Mak, A.S., Yeung, W.S., Lee, K.F., Cheung, A.N., Ngan, H.Y., Wong, A.S. (2013). Human female reproductive tract epithelial cell culture. *Methods in Molecular Biology*, 945, 347-63. Recuperado el 10 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23097117>
13. Chávez, E., Romero, N., & Pardo, R. (2011). Índice aterogénico en pacientes perimenopáusicas. *Archivos de Investigación materno infantil*, III (2): 73 – 76. Recuperado el 12 de octubre de 2013 de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/imi/imi-2011/imi112d.pdf>
14. Cicero, A. F., Bandieri, E., & Arletti, R. (2001). *Lepidiummeyerii* Walp. improves sexual behaviour in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3): 225 - 259. Recuperado el 12 de octubre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11297856>
15. Crosbie, E.J., Zwahlen, M., Kitchener, H.C., Egger, M., Renehan, A.G. (2010). Body mass index, hormone replacement therapy, and endometrial cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 19(12):3119-30. Recuperado el 12 de octubre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21030602>
16. Dancker., L. (2008). Terapia hormonal: ¿más riesgos que beneficios o más beneficios que riesgos? *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 54(2):108-116

17. D'haeseleer, E., Depypere, H., Claeys, S., Van Borsel, J., Van Lierde, K. (2009). The menopause and the female larynx, clinical aspects and therapeutic options: a literature review. *Maturitas*. 64(1):27-32. Recuperado el 8 de octubre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19632797>
18. Dulanto, R., Leey, J., Villena, A., & Seclén, S. (2002). Estereotipo psico-socio-cultural de la menopausia en mujeres peruanas: estudio piloto en San Juan de Lurigancho-Lima. *Acta Médica Peruana*, 19(4): 5 – 11.
19. Escalante, C., Quesada, S., & Zeledon, F. (2009). Perfil oxidativo de la mujer menopáusica: Papel de los estrógenos en la prevención y tratamiento de las enfermedades. *Acta Médica Costarricense*, 51(4): 206-212 . Recuperado el 08 de setiembre de 2013 de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43419241004>
20. Feliciano, T. (2011). Menopausia y riesgo cardiovascular. *Revista Centroamericana de Obstetricia y Ginecología*. 16(2): 41 – 43.
21. Fernandes, C., Pompei, L., & Peixoto, S. (2008). Effects of Estradiol and Norethisterone on Lipids, Insulin Resistance and Carotid Flow. 59(3): 249-258. *Maturitas*. Recuperado el 08 de setiembre de 2014 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18359175>
22. Ferris, J.A., Pitts, M.K., Richters, J., Simpson, J.M., Shelley, J.M., Smith, A.M. (2010). National prevalence of urogenital pain and prostatitis-like symptoms in Australian men using the National Institutes of Health Chronic Prostatitis Symptoms Index. *BJU International*, 105(3):373-9. Recuperado el 10 de octubre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19549116>
23. Francisco, AM., Carbonel, AF., Simões, RS., Soares, JM. Jr., Baracat, EC., Haidar, MA. (2013). Do extracts of oral soybean augment the trophic effect of estrogen on the rat uterus? *Climacteric*, 16(1):161-8.

Recuperado el 10 de octubre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22762389>

24. Gonzales, GF. (2012). Ethnobiology and Ethnopharmacology of *Lepidium meyenii* (Maca), a Plant from the Peruvian Highlands. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, ID Article 193496. doi: 10.1155/2012/193496. Recuperado el 10 de octubre de 2013 de: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/193496/>
25. Gonzales, G.F., Gasco M., Lozada-Requena, I. (2013). Role of maca (*Lepidium meyenii*) consumption on serum interleukin-6 levels and health status in populations living in the Peruvian Central Andes over 4000 m of altitude. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(4):347-51. Recuperado el 22 de Agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23934543>
26. Gonzales, GF., Gonzales, C., Gonzales-Castañeda, C. (2009). *Lepidium meyenii* (Maca): a plant from the highlands of Peru--from tradition to science. *Forschen de Komplementär medizin*, 16(6):373-80. Recuperado el 10 de octubre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20090350>
27. Gordstein, F., Stampfer, M., Manson, J., Colditz, G., Willet, W., Rosner, B., y otros.(1996). Postmenopausal oestrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease. *New England Journal Medicine*, 335:453- 461.
28. Ha, B.J., Lee, S.H., Kim, H.J., Lee, J.Y. (2006). The role of *Salicornia herbacea* in ovariectomy-induced oxidative stress. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(7):1305-9. Recuperado el 08 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16819158>
29. Heart Advisor (2011). New warnings emerge for estrogen plus progesterone. Two studies confirm major cardiovascular risks outweigh minor health benefits for postmenopausal women. *the*

Cleveland Clinic Heart Advisor 14:10(5). Recuperado el 08 de setiembre de 2013 de: http://www.heart-advisor.com/issues/14_10/womens-advisor/Estrogen-Plus-Progesterone_969-1.html

30. Henderson, K.; Bernstein, L.; Henderson, B.; Kolonel, L.; Pike, M. (2008). Predictors of the timing of natural menopause in the Multiethnic Cohort Study. *American Journal Epidemiology*. 167: 1287 - 1294. Recuperado el 28 de agosto de 2013. <http://www.medscape.com/viewarticle/578428>
31. Holvoet, P. (2008). Relations between metabolic syndrome, oxidative stress and inflammation and cardiovascular disease. *Verhandelingen – Koninklijke Academievoor Geneeskunde van België*, 70(3):193-219. Recuperado el 18 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18669160>
32. Khan, M.H., Victor. F., Rao, B., Sadick, N.S. (2010). Treatment of cellulite: Part II. Advances and controversies. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 62(3):373-84. Recuperado el 12 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20159305>
33. Kokot-Kierepa, M., Bartuzi, A., Kulik-Rechberger, B., Rechberger, T. (2012). Local estrogentherapy--clinicalimplications. *Ginekologia Polska*. 83(10):772-7. Recuperado el 18 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23383564>
34. Lacey, J.V. Jr, Brinton, L.A., Leitzmann, M.F., Mouw, T., Hollenbeck, A., Schatzkin, A., Hartge, P. (2006). Menopausal hormone therapy and ovarian cancer risk in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study Cohort. *Journal of the National Cancer Institute*. 98(19):1397-405. Recuperado el 15 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17018786>

35. Lazzeroni, M., Gandini, S., Puntoni, M., Bonanni, B., Gennari, A., De Censi, A. (2011). The science behind vitamins and natural compounds for breast cancer prevention. Getting the most prevention out of it. *Breast, Suppl 3*:S36-41. Recuperado el 25 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22015291>
36. León, J. (1996). Maca (*Lepidium meyenii*): a little known food plant of Perú. *Economic Botany*. 50:216-223
37. Levine, M. (1986). New Concepts in the Biology and Biochemistry of Ascorbic Acid. *New England Journal of Medicine*, 314: 892 – 902. Recuperado el 08 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3513016>
38. Lewis, S.J. (2002). Cardiovascular disease in postmenopausal women: myths and reality. *American Journal of Cardiology*. 89 (suppl): 5E - 11E. Recuperado el 17 setiembre de 2013 de: <http://www.deepdyve.com/lp/elsevier/cardiovascular-disease-in-postmenopausal-women-myths-and-reality-cOOKDV2C9f>
39. Luoto, R.; Sharret, A.R.; Schreider, P.; Sorlie, P.D.; Arnett, D.; Ephross, S. (2000). Blood pressure and menopausal transition: the Atherosclerosis risk in communities study (1987-95). *Journal of Hypertension*. 18: 27 - 33.
40. Luisi, S., Orlandini, C., Biliotti, G., Scolaro, V., De Felice, G., Regini, C., Petraglia, F. (2013). Hormone replacement therapy in menopause and in premature ovarian insufficiency. *Minerva Ginecologica*, 65(6):607-20. Recuperado el 15 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24346249>
41. Madrigal, L.; Meléndez-Obando, M. (2008). Grandmothers' longevity negatively affects daughters fertility. *American Journal of Physical Anthropology*. 136: 223-229. Recuperado: el 17 setiembre 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18322917>

42. Matz-Costa, C., Besen, E., Boone James, J., Pitt-Catsoupes, M. (2012). Differential Impact of Multiple Levels of Productive Activity Engagement on Psychological Well-Being in Middle and Later Life. *The Gerontologist*. Recuperado el 15 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23213083>
43. Melby, M.K., Anderson, D., Sievert, L.L., Obermeyer, C.M. (2011). Methods used in cross-cultural comparisons of vasomotor symptoms and their determinants. *Maturitas*. 70(2):110-9. Recuperado el 12 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21871743>
44. Montaña, R., Urrutia, J., & Schepeler, M. (2001). Conceptos y definiciones en climaterio y menopausia. En: E Arteaga, P Contreras, O González (Eds.), *Consenso en Climaterio 2001*. Santiago, Chile: Sociedad Chilena de Climaterio. Recuperado el 12 de setiembre de 2013 de
45. Mukhopadhyay, PK., Dey, A., Mukherjee, S., Pradhan, NK. (2013). The effect of coadministration of α -tocopherol and ascorbic acid on arsenic trioxide-induced testicular toxicity in adult rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 24(4):245-53. Recuperado el 27 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23950573>
46. Muthusami, S., Ramachandran, I., Muthusamy, B., Vasudevan, G., Prabhu, V., Subramaniam, V., y otros. (2005). Ovariectomy induces oxidative stress and impairs bone antioxidant system in adult rats. *Clinica Chimica Acta*. 360: 81-86. Recuperado el 27 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15970279>
47. Naziroğlu, M., Butterworth, P.J., Sonmez, T.T. (2011). Dietary vitamin C and E modulates antioxidant levels in blood, brain, liver, muscle, and testes in diabetic aged rats. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 81(6):347-57. Recuperado el 27 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22673918>

48. Nelson, H., Haney, E., & Humphrey, L. (2005). *Management of menopause-related symptoms. Evidence Report/technology Assessment no. 120*. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. Recuperado el 20 de agosto de 2013 de: <http://archive.ahrq.gov/downloads/pub/evidence/pdf/menopause/menopaus.pdf>
49. Omar, N.M., Hussein, A.M., Malek, H.A., Saad, M.A., Saleh, D.M. (2012). Influence of age on pain sensitivity in response to paw pressure and formalin injection in rats: a role of nitric oxide. *General Physiology and Biophysics*, (2):185-94. Recuperado el 20 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22781822>
50. Oré, R. (2008). *Efectos hipolipémico y antioxidante de Lepidium Meyenii Walp en ratas*. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
51. Oztekin, E., Muhtar Tiftik, A., Kasim Baltaci, A., & Mogulkoc, R. (2007). Lipid peroxidation in liver tissue of ovariectomized and pinealectomized rats: effect of estradiol and progesterone supplementation. *Cell Biochemistry and Function*, 25: 401–405. Recuperado el 12 de setiembre de 2013 de: <http://www.pubfacts.com/detail/16444765/Lipid-peroxidation-in-liver-tissue-of-ovariectomized-and-pinealectomized-rats:-effect-of-estradiol-a>
52. Pacheco, J. (2010a.). Symposium: Estrés oxidativo en la mujer climática. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 56: 85-86.
53. Pacheco, J. (2010b.). Estrés oxidativo en el climaterio y menopausia y cáncer ginecológico. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 56: 108-119.

54. Pacheco, J., & Salvador, J. (1997). Conocimiento y actitudes de la mujer peruana sobre el climaterio y la menopausia. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 43(1): 225 – 230.
55. Pinheiro, C., de Sousa Filho, W., de Oliveira Neto, J., M.J., F., Motta, R., Ramos, M., y otros. (2009). Exercise Prevents Cardiometabolic Alterations Induced by Chronic Use of Glucocorticoids. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 93(3): 372 - 380. Recuperado el 10 de setiembre de 2013 de: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0066-782X2009001000014&script=sci_arttext&tIng=en
56. Reyna, E., Guerra, M., Torres, M., Reyna, N., & Mejía, J. (2007). Perfil lipídico en mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*, 67(2): 107-113. Recuperado el 10 de setiembre de 2013 de: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=508705&indexSearch=LD>
57. Robinson, D., Tooze-Hobson, P., Cardozo, L. (2013). The effect of hormones on the lower urinary tract. *Menopause International*, 19(4):155-62. Recuperado el 23 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24336244>
58. Rozenbaum, H. (2010). Climacteric commentaries. Menopause management revisited.. *Climacteric*. 13(5):500-501. Recuperado el 19 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20738238>
59. Ruiz-Luna, A., Salazar, S., & Aspajo, N. (2005). *Lepidium meyenii* (Maca) increases litter size in normal adult female mice. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3:16. Recuperado el 10 de octubre de 2013 de: <http://www.rbej.com/content/3/1/16>
60. Sivritas, D., Becher, MU., Ebrahimian, T., Arfa, O., Rapp, S., Bohner, A. et al. (2011). Antiproliferative effect of estrogen in vascular smooth

muscle cells is mediated by Kruppel-like factor-4 and manganese superoxide dismutase. *Basic Research in Cardiology*, 106(4):563-575. Recuperado el 12 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21484412>

61. Subbarayan, A., Dattani, M.T., Peters, C.J., Hindmarsh, P.C. (2013). Cardiovascular risk factors in children and adolescents with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Clinical Endocrinology (Oxf)*, 80 (4), 471-477. Recuperado el 20 de agosto de 2013 de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cen.12265/abstract>
62. Schlueter, A., & Johnston, C. (2011). Vitamin C: Overview and Update. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*. 16(1): 49-57. Recuperado el 22 de setiembre de 2013 de: <http://chp.sagepub.com/content/16/1/49.abstract>
63. Serag el Din, O. B. (2011). Effect of SoyBeans on Lipid Profile of Female and Male Albino Rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5(6): 14 - 22. Recuperado el 10 de setiembre de 2013 de: <http://ajbasweb.com/old/ajbas/2011/june-2011/14-22.pdf>
64. Shehata, M., Kamel, MA. (2008). Protective effect of antioxidant adjuvant treatment with hormone replacement therapy against cardiovascular diseases in ovariectomized rats. *Endocrine Regulation*. 42(2-3):69-75. Recuperado el 12 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18624609>
65. Shin, B.C., Lee, M.S., Yang, E.J., Lim, H.S., Ernst, E. (2010). Maca (*L. meyenii*) for improving sexual function: a systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10:44. Recuperado el 10 de setiembre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20691074>
66. Sivridis, E., Giatromanolaki, A. (2011). The pathogenesis of endometrial carcinomas at menopause: facts and figures. *Journal of*

Clinical Pathology, 64(7):553-560. Recuperado el 10 de octubre de 2013 de: <http://jcp.bmijournals.com/content/64/7.toc>

67. Stone, M., Ibarra, A., Roller, M., Zangara, A., Stevenson, E. (2009). A pilot investigation into the effect of maca supplementation on physical activity and sexual desire in sportsmen. *Journal Ethnopharmacology*, 126(3):574-576. Recuperado el 02 de octubre de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19781622>
68. Tagalak.s, V., Kondal, D., Ji, Y., Boivin, J.F., Moride, Y., Ciampi ,A., Kahn, S.R. (2012). Men had a higher risk of recurrent venous thromboembolism than women: a large population study. *Gender Medicine*, 9(1):33-43. Recuperado el 17 de agosto de 2013 de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1550857911002580>
69. Tempfer, C.B., Froese, G., Heinze, G., Bentz, E.K., Hefler, L.A., Huber, J.C. (2009). Side effects of phytoestrogens: a meta-analysis of randomized trials. *American Journal of Medicine*, 122(10):939-946. Recuperado el 27 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19786161>
70. Torresani, M.E.; Oliva, M.L.; Echeverria, C.; Rossi, M.L. (2009). Peso relativo de factores de riesgo cardiometabólicos en mujeres pre y post menopáusicas. *Diaeta.*; 27(126): 12-17.
71. Uçar, B., Kiliç, Z., Dinleyici, E.C., Colak, O., Güneş, E. (2007). Serum lipid profiles including non-high density lipoprotein cholesterol levels in Turkish school-children. *Anadolu Kardiyoloji Dergesi* 7(4):415-420. Recuperado el 20 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18065339>
72. Valentová, K., Stejskal, D., Bartek, J., Dvoráková, S., Kren, V., Ulrichová, J., Simánek, V. (2008). Maca (*Lepidium meyenii*) and yacon (*Smallanthus Sonchifolius*) in combination with silymarin as food

- supplements: in vivo safety assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 46(3):1006-1013. Recuperado el 28 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18054420>
73. Valerio, L.G. Jr, Gonzales, G.F. (2005). Toxicological aspects of the South American herbs cat's claw (*Uncaria tomentosa*) and Maca (*Lepidium meyenii*): a critical synopsis. *Toxicological Reviews*, 24(1):11-35. Recuperado el 03 de octubre de 2013 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16042502>
 74. Večeřa, R., Orolin, J., Škottová, N., Kazdová, L., Oliyarnik, O., Ulrichová, J., y otros. (2007). The Influence of Maca (*Lepidium meyenii*) on Antioxidant Status, Lipid and Glucose Metabolism in Rat. *Plant Foods for Human Nutrition*. 62: 59–63. Recuperado el 26 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17333395>
 75. Villasmil, E. R., Guerra, M., & Torres, M. (2007). Perfil lipídico en mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*, 67(2): 107-114. Recuperado el 29 de agosto de 2013 de: <http://www.oalib.com/paper/2441124>
 76. Windler, E., Zyriax, B.C., Eidenmüller, B., Boeing, H. (2007). Hormone replacement therapy and risk for coronary heart disease. Data from the CORA-study--a case-control study on women with incident coronary heart disease. *Maturitas*. 57(3):239-246. Recuperado el 27 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17292571>
 77. Zavalza, A., Graver, F., Mora, J., Centeno, M., & Anaya, R. 2. (2007). El cambio en la sensibilidad a la insulina no altera el perfil de lípidos en mujeres con posmenopausia temprana. *Revista Médica Chile*. 135(5): 613-619. Recuperado el 02 de setiembre de 2013 de: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872007000500009&script=sci_arttext

78. Zenico, T., Cicero, A.F., Valmorri, L., Mercuriali, M., Bercovich, E. (2009). Subjective effects of *Lepidium meyenii* (Maca) extract on well-being and sexual performances in patients with mild erectile dysfunction: a randomised, double-blind clinical trial. *Andrologia*. 41(2):95-99. Recuperado el 27 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19260845>
79. Zheng, B.L., Kim, C.H., Rogers, L., Shao, Y., Huang, Z.Y., Lu, Y., Yan, S.J., Qien, L.C., Zheng, Q.Y. (2000). Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. *Urology*. 55(4): 598-602. Recuperado el 27 de agosto de 2013 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10736519>